

AVIS **de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,** **de l'environnement et du travail**

relatif à l'utilisation de certains tests de diagnostic de la tuberculose bovine

Première partie : caractéristiques intrinsèques et performances du test interféron gamma.

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont rendus publics.

L'Agence nationale de la sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail a été saisie le vendredi 13 janvier 2012 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'avis relatif à l'utilisation de certains tests de diagnostic de la tuberculose.

CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Un test de dosage de l'interféron gamma (IFN γ), ci-après désigné « test IFN γ », est utilisé en France depuis 2008 pour certaines opérations de dépistage de la tuberculose bovine dans des zones à risque. Il mesure la réponse de certains lymphocytes sanguins à une stimulation par des antigènes. Deux types d'antigènes de mycobactéries peuvent être utilisés pour le diagnostic de la tuberculose bovine avec cette méthode : les dérivés protéiques purifiés (PPD, Protein purified derivative, notamment le test BovigamND) constituant un mélange antigénique complexe, et des antigènes définis, spécifiques du complexe *M. tuberculosis* (antigènes ESAT-6 et CFP10) et produits sous forme recombinante.

Selon les conclusions de l'audit de l'Office alimentaire et vétérinaire (OAV) réalisé en septembre 2011, certaines modalités d'utilisation de ce test en France constituent un écart majeur au regard des dispositions réglementaires communautaires actuelles (Directive CE/64/432).

Les protocoles d'utilisation du test IFN γ ont donc été révisés par les Autorités françaises par la note de service DGAL/SDSPA/N2011-8257 du 1^{er} décembre 2011 en vue de se rapprocher des exigences réglementaires définies par les annexes A et B de la Directive CE/64/432.

La DGAL souhaite l'avis de l'Anses sur l'utilisation qui a été faite en France dans certains départements du test IFN γ , et sur l'utilisation qui pourrait en être faite.

La saisine pose :

- des questions techniques relatives aux performances du test IFN γ :

- quelles combinaisons d'antigènes sont les plus adaptées aux différentes situations épidémiologiques (usage « en série », usage « en parallèle » dans le cadre de protocoles d'assainissement par abattage partiel) ?
- quels seuils d'interprétation devraient être prescrits, d'une part, pour une utilisation du test IFN γ « en série » dans les zones à risque où s'applique actuellement le protocole, et d'autre part, en perspective d'utilisation sur l'ensemble du territoire ?
- des questions d'évaluation de risque :
 - évaluation du risque de diffusion de la maladie à partir de cheptels soumis aux procédures françaises comparativement à une situation où les procédures européennes seraient appliquées ;
 - propositions d'évolutions du protocole français précisant les conditions d'utilisation du test IFN γ (combinaisons d'antigènes et seuils d'interprétation) qui devraient être appliquées.

PERIMETRE ET LIMITATIONS DU CHAMP D'EXPERTISE

Certaines données utilisables pour répondre aux questions de la saisine sont disponibles pour deux départements et une région ayant largement utilisé le test IFN γ au cours des dernières années : respectivement, Côte-d'Or, Dordogne et Camargue. Elles ont été analysées dans le cadre d'une étude conduite par le laboratoire EPIMAI (UPEC-ENVA USC Anses) dont les résultats sont présentés en Annexe F.

L'expertise s'est appuyée en partie sur les résultats de cette étude, elle-même réalisée à partir de données collectées au cours des opérations de prophylaxie et de police sanitaire :

- entre novembre 2009 et janvier 2012 en Côte-d'Or,
- entre octobre 2008 et mai 2012 en Dordogne,
- entre septembre 2009 et mars 2012 en Camargue.

Ces données de l'étude sont donc issues de l'application des protocoles décisionnels (tels que présentés en Annexes A et B) antérieurs à celui élaboré suite aux conclusions de l'audit de l'OAV et défini dans la note de service du 1/12/2011. Les données correspondant à l'application de ce nouveau protocole sont encore en cours de collecte et le résultat de leur analyse n'était donc pas disponible pour l'expertise actuelle.

Le groupe d'expertise collective (GT) « Tuberculose-test interféron gamma » a jugé opportun, dans un premier temps, de comparer le risque de diffusion de la tuberculose bovine lié à l'application des protocoles décisionnels français précédant les conclusions de l'audit de l'OAV, à celui qui aurait été lié à la stricte application du protocole européen (application de la Directive CE/64/432).

Les caractéristiques intrinsèques des tests selon la situation épidémiologique de la région dans laquelle ils sont utilisés ont été déterminées avec les données disponibles.

Enfin, l'utilisation du test IFN γ a été envisagée dans le cadre du territoire métropolitain.

Les questions soulevées par la saisine ont été reformulées en accord avec le demandeur (DGAI) (cf. audition du 05/06/2012 précisée dans le chapitre « organisation de l'expertise » ci-dessous). Deux avis de l'Anses se succèdent afin d'y apporter une réponse.

Le premier et présent avis répond aux questions suivantes :

- 1) Quelles sont les caractéristiques intrinsèques des tests IFN γ (global/ BovigamND/ Re-combinant) actuellement utilisés en France ?
- 2) Quels sont les tests IFN γ et leurs seuils de positivité qui devraient être recommandés dans les départements où persiste la tuberculose en France ?
- 3) Dans le cadre du dépistage de la tuberculose bovine en France, quelle est l'importance du risque lié à l'utilisation « en série » du test IFN γ (après une ID) par rapport au risque lié à l'utilisation de deux ID « en série » (tel que préconisé par la réglementation européenne) ?

ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise relève du domaine de compétences du comité d'experts spécialisé « Santé animale » (CES SANT). L'Anses a confié l'expertise au groupe de travail « Tuberculose-test interféron gamma » dont les travaux ont été présentés au CES « SANT », réuni le 19 septembre 2012, et ont été adoptés lors de cette séance.

L'expertise s'est appuyée sur les éléments suivants :

- La lettre de saisine
- Les textes réglementaires suivants :
 - o Directive du conseil du 26 juin 1964 relative à des problèmes de police sanitaire en matière d'échanges intracommunautaires d'animaux des espèces bovine et porcine (CE/64/432) ;
 - o Arrêté du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovins et des caprins (JORF du 30.09.2003) ;
 - o Lettre à diffusion limitée du 10 juin 2008 : DGAL/SDSPA/N2008-1152 « Rapport d'appui scientifique et technique de l'Afssa en vue de l'évaluation d'un protocole interféron gamma mis en œuvre en Dordogne »
 - o Note de service du 08 novembre 2010 : DGAL/SDSPA/N2010-8305 « Tuberculose bovine : Dispositions techniques en application de l'arrêté du 15 septembre 2003 modifié » ;
 - o Lettre à diffusion limitée du 06 mai 2010 : DGAL/SPRSPP/SDSPA/N2010-0798 « Dérogation à l'abattage total à titre expérimental de certains troupeaux bovins infectés de tuberculose dans les départements 21 et 24-critères d'éligibilité et protocole applicable » ;
 - o Note de service du 01 décembre 2011 : DGAL/SDSPA/N2011-8257 « Recours au dosage de l'interféron gamma pour un usage « en série » dans le cadre du dépistage de la tuberculose bovine ».
- Les rapports d'expertise et autres notes techniques suivants :
 - o Rapport d'expertise sur la tuberculose bovine en Côte-d'Or, septembre 2009 ;
 - o Rapport de synthèse sur les recommandations en matière de tuberculose bovine en Côte-d'Or (mission d'expertise 6-7 septembre 2010) ;
 - o Rapport d'expertise sur la tuberculose bovine en Dordogne, 5-6 juillet 2010 ;
 - o Note du Conseil général de Dordogne, Laboratoire Départemental d'Analyse et de Recherche : « Proposition d'adaptation des conclusions des tests interféron gamma dans le cas de l'utilisation de deux tests différents : PPD et Ag spécifiques », Janvier 2012.
- Les avis ou rapport d'appui scientifique et technique de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) suivants :
 - o 2007-SA-0351 « Rapport d'appui scientifique et technique de l'Afssa en vue de l'évaluation d'un protocole interféron gamma mis en œuvre en Dordogne » ;
 - o 2008-SA-0167 « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'élaboration d'un protocole pour le suivi d'un troupeau bovin infecté de tuberculose abattu partiellement en vue de sa requalification » ;
 - o 2008-SA-0263 « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur un projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 15 septembre 2003 fixant les mesures techniques et administratives relatives à la prophylaxie collective et à la police sanitaire de la tuberculose des bovins et des caprins » ;
 - o 2009-SA-0280 « Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux mesures visant à renforcer la lutte contre la tuberculose bovine en Côte-d'Or ».

- Le document présentant les résultats de l'étude réalisée par le laboratoire EPIMAI (Annexe F).
- Les références bibliographiques indiquées en fin de rapport.
- L'audition téléphonique du responsable du dossier de saisine à la DGAI au cours de la réunion du GT du 5 juin 2012 ;
- L'audition téléphonique du directeur du laboratoire départemental de la Dordogne au cours de la réunion du GT du 6 septembre 2012.

ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES SANTE ANIMALE

L'argumentaire de l'Anses est fondé sur l'avis du CES SANT, dont les éléments sont présentés ci-dessous :

« 1. Contexte

1.1 Éléments de réglementation et du dispositif de surveillance

La France est reconnue officiellement indemne de tuberculose bovine par l'Union Européenne depuis décembre 2000 (décision CE/2001/26), c'est-à-dire que la proportion de troupeaux qualifiés « officiellement indemnes » en France est supérieure à 99,9% au 31 décembre de chaque année, et la proportion de troupeaux infectés annuellement est inférieure à 0,1%.

La surveillance de la tuberculose bovine en France repose, d'une part, sur le dépistage des animaux vivants en élevage et, d'autre part, sur la recherche de lésions à l'abattoir.

❖ **Le dépistage en élevage** correspond à une prophylaxie obligatoire pour les animaux de plus de six semaines.

Le dépistage est effectué par intradermo-tuberculination (ID) qui peut être simple (IDS) ou comparative (IDC). En fonction de l'évolution du taux de prévalence annuel départemental, des allègements du rythme de dépistage et de l'âge minimum des animaux dépistés sont réglementairement possibles (figure 1). Un zonage peut également être mis en place afin de rendre obligatoire la prophylaxie annuelle dans certaines communes considérées à risque, indépendamment du rythme appliqué dans le reste du département. La prophylaxie peut être rendue annuelle dans les élevages classés à risque, soit en raison d'un risque épidémiologique bien identifié (ancien foyer, lien avec un foyer récent, proximité d'un foyer de faune sauvage), soit en raison d'un risque de maîtrise sanitaire insuffisante par l'éleveur, qui peut être mis en évidence lors de la visite sanitaire bovine obligatoire.

L'intégralité de la réalisation du dépistage a lieu sur le terrain, alors que les analyses immunosérologiques se font au laboratoire après recueil d'un prélèvement sanguin. Par ailleurs, la lecture des ID nécessitant une nouvelle contention des animaux 72 heures après injection, ce dépistage peut s'avérer très contraignant dans certains types de troupeaux. Enfin, en raison de l'existence d'une phase de moindre réactivité allergique à la suite d'une première ID, deux dépistages par ID doivent être espacés d'au moins six semaines, ce qui implique la prise de mesures conservatoires en cas de nécessité de recontrôle (c'est-à-dire le blocage des troupeaux suspects).

En Dordogne, en Côte-d'Or et en Camargue, en raison de difficultés particulières, certaines opérations de dépistage ont été effectuées au moyen du test IFNy : recontrôles d'animaux non négatifs lors du dépistage par ID dans certains départements, et dépistage systématique pour les bovins camarguais très difficilement manipulables. Alors qu'il est préconisé par la Directive européenne CE/64/432 de conduire ces différents types d'analyses « en parallèle¹ » (dans un objectif de gain de sensibilité de la détection des animaux infectés), les opérations de recontrôle dans ces départements (21 et 24) ont conduit à l'utilisation « en série » du test IFNy.

¹ Usage du test IFNy « en parallèle » de l'intradermotuberculination : réalisation concomitante du test IFNy et de l'ID.
Usage du test IFNy en série : réalisation du test à la suite, d'un résultat non négatif à l'ID.

❖ **La surveillance à l'abattoir** repose sur l'inspection systématique de toutes les carcasses de bovins abattus sur le territoire national. En cas de détection de lésions suspectes, des prélèvements des organes atteints ou des nœuds lymphatiques² sont transmis au laboratoire pour analyses histologique et bactériologique (culture et éventuellement PCR). En cas de résultat non négatif en PCR, celui-ci doit être confirmé par le LNR (Anses, Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort). Dans le cas d'isolement d'une mycobactérie, celle-ci doit être transmise au LNR qui réalise l'identification et le typage moléculaire quand il s'agit de *M. bovis*. Par ailleurs, dans le cas d'abattages diagnostiques à la suite de résultats non négatifs en ID, trois paires de nœuds lymphatiques sont systématiquement prélevées pour réalisation d'une PCR et mise en culture.

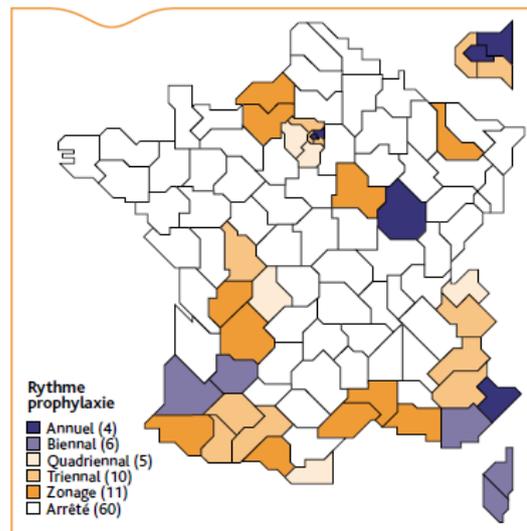


Figure 1 : Rythmes de prophylaxie de la tuberculose bovine déclarés par les DD(CS)PP pour l'année 2010 en France métropolitaine (Anses, 2010)

❖ **Suspensions**

Réglementairement en France, un cheptel est notamment considéré comme « suspect » lors de résultats non négatifs à l'ID ou de lésions évocatrices de tuberculose bovine identifiées à l'abattoir. Le cheptel doit alors être placé sous arrêté de mise sous surveillance (APMS) et sa qualification est suspendue. Des investigations doivent être conduites en élevage : une enquête épidémiologique et des IDC sont réalisées sur tout ou partie des animaux du troupeau. Le cheptel retrouve sa qualification « officiellement indemne » lorsque toutes les IDC sont négatives.

Les animaux réagissants peuvent être abattus à des fins diagnostiques. Si les résultats sont négatifs une nouvelle série d'IDC doit être réalisée et le résultat doit en être négatif pour lever la suspicion.

En cas de mise en évidence de lien épidémiologique avec un foyer avéré, l'élevage est considéré comme « susceptible d'être infecté », sa qualification peut être suspendue et des investigations sont conduites par ID et/ou abattage diagnostique.

Dans certains départements, la mise en évidence d'un nombre non négligeable de foyers de tuberculose a conduit à adopter des stratégies spécifiques combinant abattage diagnostique des animaux présentant un résultat positif au test IFN γ et un résultat non négatif à l'ID ; et augmentation de la fréquence des contrôles (cf. 1.2 et 1.3 ci-après).

❖ **Confirmations**

Un troupeau est généralement considéré comme « infecté » sur la base de la mise en évidence de *Mycobacterium bovis*.

Toutefois, il est également possible de considérer un troupeau infecté si :

² Les nœuds lymphatiques rétropharyngiens, trachéobronchiques et médiastinaux sont prélevés pour culture bactériologique au laboratoire.

- des ID positives sont associées à des signes cliniques (ce qui est rarissime) ;
- des IDC positives sont associées à des lésions histologiques évocatrices ;
- une analyse PCR positive est associée à des lésions histologiques évocatrices ;
- une analyse PCR positive est associée à une ID positive.

Un troupeau infecté est placé sous arrêté préfectoral portant déclaration d'infection (APDI) et sa qualification est retirée. L'abattage total des bovinés de l'exploitation doit alors être organisé.

Toutefois, dans certaines situations, le recours à l'abattage partiel a été rendu possible dans un but de conservation de races locales (Camargue) ou de préservation d'un patrimoine génétique de haute valeur, ou en raison d'une pression d'infection plus élevée (Côte-d'Or, Dordogne). Des protocoles d'assainissement rigoureux, fondés sur des contrôles périodiques avec abattage des animaux présentant des réactions non négatives aux tests, sont alors mis en œuvre. Si la proportion d'animaux « non négatifs » est trop importante ou que le cheptel ne parvient pas assez rapidement à l'assainissement, un abattage total est, *in fine*, décidé.

1.2 Situation épidémiologique

Bien qu'officiellement indemne de tuberculose bovine depuis décembre 2000, la France connaît encore des difficultés concentrées dans certaines régions (Figure 2). Ainsi, la prévalence et l'incidence des foyers de tuberculose bovine depuis 2006 restent à peu près constantes (en moyenne un total de 100 foyers, dont 70 nouveaux foyers par an) malgré l'intensification des efforts de lutte.

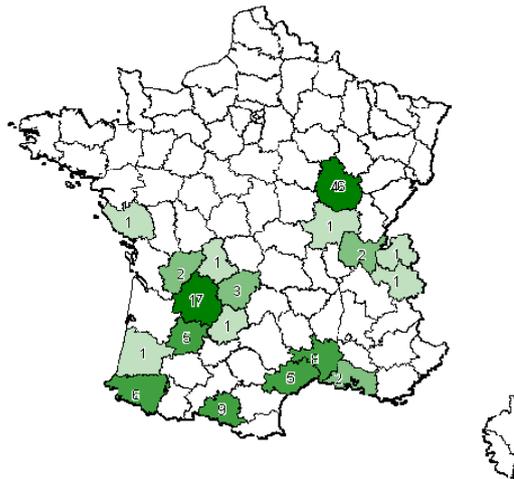


Figure 2 : Représentation de l'incidence départementale des foyers de tuberculose bovine en France en 2010 (cf. Annexe F)

Les difficultés des zones d'infection résiduelle sont connues :

❖ Le département de la Côte-d'Or comporte des zones d'élevages allaitants de grande taille (ce qui majore le risque d'infection [Brooks et Keeling, 2009]) dont les bovins passent de longues périodes en pâturage (fréquence de contrôle limitée).

La vie économique de ces exploitations est directement dépendante de la vente des « broutards » (jeunes animaux de 6 mois vendus pour l'engraissement essentiellement en Italie). Le blocage de ces troupeaux pendant des semaines est donc particulièrement contraignant sur le plan économique.

Par ailleurs, de nombreuses réactions d'ID non négatives sont observées au cours des opérations de dépistage de la tuberculose dans ces zones. En effet, près de 60 % des troupeaux indemnes soumis au dépistage en Côte-d'Or en 2009-2010 et 2010-2011 ont présenté des réactions non spécifiques à la tuberculine bovine de l'IDC alors que le taux d'infection des cheptels reconnu dans le département est d'environ 1% (cf. Annexe G). La plupart de ces réactions faussement positives sont directement liées à la taille importante des troupeaux, qui diminue très fortement la caractéris-

tique « spécificité troupeau » du dépistage par ID. Elles sont imputées historiquement à des réactions dues à la présence de mycobactéries non tuberculeuses (Corner et Pearson, 1979).

La fréquence des réactions non négatives associée aux conséquences économiques résultant du blocage des exploitations faisant suite à ces réactions, conduisent éleveurs et vétérinaires à une certaine démotivation que cinquante années de lutte ne suffisent pas, seules, à expliquer.

❖ Dans le département de la Dordogne, au contraire de la Côte-d'Or, les exploitations sont de plus petite taille dans un contexte de polyélevage et polyculture conduisant certains éleveurs à être moins spécialisés dans la production bovine que les éleveurs de régions plus spécifiquement dédiées aux productions bovines. Les élevages allaitants de cette zone sont constitués majoritairement d'animaux de race limousine dont la contention est difficile. Ces éléments ont conduit à une démotivation assez ancienne des acteurs terrain pour les mesures de dépistage de la tuberculose bovine dans le département (cf. rapport d'expertise sur la tuberculose bovine en Dordogne [5-6 juillet 2010]).

❖ La Camargue regroupe trois départements (Bouches-du-Rhône, Gard, Hérault) et comprend 276 troupeaux d'animaux destinés au combat (soit 20 000 animaux au total). Ces taureaux de race camarguaise ou espagnole sont élevés dans un objectif de courses de type corridas ou cocardes. La valeur économique de ces derniers est très élevée (certains taureaux ont une valeur économique atteignant 150 000 euros).

L'élevage de ces animaux est très particulier : les troupeaux forment des manades très étendues ; la contention des animaux est très difficile à mettre en œuvre car ces animaux sont élevés pour le combat et leur manipulation peut entraîner une diminution de leur caractère combatif.

La prophylaxie de la tuberculose a été largement sous-réalisée dans cette région depuis quelques années en raison de la dangerosité de la contention de ces animaux. La reprise du dépistage en 2009 a mis en évidence que 5 à 7% des animaux étaient alors infectés de tuberculose.

1.3 Contexte de l'utilisation du test IFN γ

Le test IFN γ peut être utilisé en complément d'autres tests de dépistage, de deux manières différentes :

- Soit le test est utilisé « en parallèle » d'une ID ; c'est-à-dire que les animaux sont tous soumis au même moment au test IFN γ et à l'ID. L'animal est considéré comme ayant fourni un résultat positif au dépistage si l'un des deux tests (/ou les deux) fournit (/ssent) une réponse positive. L'objectif est, dans ce cas, d'améliorer la sensibilité du dépistage. Cette pratique autorisée par la réglementation européenne, est courante dans de nombreux pays ainsi qu'en France, lors d'abattages partiels, dans les troupeaux infectés pour mieux dépister les animaux infectés, et dans les troupeaux fortement suspects de tuberculose afin d'augmenter la sensibilité du dépistage.
- Soit le test est utilisé « en série » d'une ID ; c'est à dire que les animaux soumis à l'ID sont soumis au test IFN γ si, et seulement si, ils ont présenté, lors de la lecture de l'ID, (soit 3 jours plus tard) une réaction non négative³. L'objectif est, dans ce cas, d'améliorer la spécificité du dépistage. Cette pratique, en principe non autorisée par la directive européenne, est utilisée en France⁴, dans des zones où l'infection persiste à bas bruit, mais où le dépistage est compliqué par l'existence de réactions non spécifiques.

En Côte-d'Or et en Dordogne, le recours au test IFN γ « en série » a permis une relance du dépistage généralisé dans les zones à risque. En effet, les prélèvements sanguins pratiqués le jour de la lecture de l'ID sur des animaux présentant des réactions non négatives et soumis au test IFN γ , permettent, d'une part, d'éviter au vétérinaire d'endosser seul la responsabilité d'un diagnostic non négatif et, d'autre part, de raccourcir notablement les délais de blocage des exploitations dans lesquelles ces réactions sont observées (24 à 48 heures *versus* 6 semaines au minimum).

Afin d'encadrer au mieux l'utilisation de l'IFN γ sur le terrain, des protocoles décisionnels ont été établis par l'administration vétérinaire en relation avec des scientifiques, et proposés dans les départements à risque de manière dérogatoire et expérimentale. Cependant, compte tenu des condi-

³ Toutefois, en Côte-d'Or, cette mesure ne concerne que les animaux présentant un résultat douteux à l'IDC. En effet, les animaux ayant réagi positivement à l'IDC sont soumis à un abattage diagnostique.

⁴ Cette pratique est toutefois reconnue par l'OIE (Manuel Terrestre, 2012, 7e éd., Tomes 1 et 2, Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 1404 p. ISBN 978-92-9044-878-5).

tions de réalisation de ce test (qui nécessite la stimulation des lymphocytes par les antigènes de *M. bovis* dans les 6 à 8 heures suivant le prélèvement sanguin), l'IFN γ n'a pas pu être validé par le laboratoire national de référence.

Le protocole d'utilisation expérimentale du test IFN γ recombinants « en série » (gestion des suspicions) a été initialement développé en Dordogne et a fait l'objet d'un rapport d'appui scientifique et technique de l'Afssa (2007-SA-0351) puis d'une lettre à diffusion limitée DGAL/SDSPA/N2008-1152. Par ailleurs, un protocole d'assainissement par abattage partiel s'appuyant sur les résultats du test IFN γ recombinants (utilisation de l'IFN γ recombinants « en parallèle » de l'ID) a été proposé et également soumis à évaluation de l'Afssa par la saisine (2008-SA-0167) puis reprécisé par une lettre à diffusion limitée DGA/SPRSPP/SDSPA/N2010-0798.

Aux dires des responsables de terrain, ces protocoles ont introduit de la souplesse et de la rapidité pour la gestion des suspicions et des foyers de tuberculose bovine en tirant profit des performances des nouvelles techniques de diagnostic. Ils ont contribué à améliorer la mobilisation des acteurs pour le contrôle de la tuberculose bovine.

En Camargue, le recours au test IFN γ , utilisé comme seul test de dépistage, en réduisant la contention des animaux particulièrement difficiles à manipuler, a permis une relance de la prophylaxie de la tuberculose bovine.

1.4 Analyse des écarts à la réglementation européenne dans la mise en œuvre du test IFN γ dans certaines régions françaises

Problématique soulevée par l'application des protocoles décisionnels au regard de la Commission européenne

En dépit des bénéfices attendus par leur mise en œuvre, les protocoles appliqués en France ne sont pas conformes à la réglementation européenne (Directive CE/64/432). L'Office alimentaire et vétérinaire (OAV) a procédé en septembre 2011 à un audit en France portant sur les conditions de certification des bovins destinés aux échanges intracommunautaires, dont celles relatives à la tuberculose bovine. A l'issue de cet audit, les autorités européennes ont considéré que la mise en œuvre de protocoles faisant appel à des procédures diagnostiques différentes de celles prévues par la Directive CE/64/432, constitue un écart majeur au regard des dispositions communautaires actuelles.

Les procédures prévues par la Directive européenne et schématisées en Annexe C de cet avis n'évoquent pas l'utilisation de l'IFN γ pour le dépistage mais prévoient, pour détecter un nombre maximal d'animaux infectés dans les élevages infectés, en plus de l'ID, l'utilisation possible du test IFN γ tel que mentionné au chapitre 2.3.3 du manuel des normes pour les tests diagnostiques et les vaccins de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE). Cette utilisation du test IFN γ doit se faire exclusivement selon un protocole « en parallèle » du test ID, afin d'augmenter la sensibilité globale de la détection des animaux infectés.

❖ Protocole décisionnel appliqué en Côte-d'Or

Zonage et campagne de prophylaxie :

Depuis quelques années, un zonage a été mis en place par arrêté préfectoral. La zone dite « rouge » regroupe les cantons dans lesquels sont localisés la majorité des foyers. L'ensemble du département est soumis à une prophylaxie annuelle obligatoire (dépistage initial réalisé par IDC fondé sur le nombre important de réactions non spécifiques probablement dues à la sensibilisation par des mycobactéries atypiques dans cette zone).

Le test IFN γ a été utilisé à titre expérimental en Côte-d'Or depuis 2009. Ce test est réalisé « en série », après l'observation d'une IDC dont le résultat est « douteux » (résultat non négatif à l'exclusion des résultats positifs), afin de pouvoir lever (éventuellement), le blocage des cheptels concernés plus rapidement que par la réalisation d'une IDC six semaines après l'IDC initiale.

Description du protocole de dépistage :

Le protocole décisionnel de dépistage utilisé en Côte-d'Or au cours des campagnes de prophylaxie 2009-2010 et 2010-2011, consultable en Annexe A, présentait trois voies de restitution de la qualification (officiellement indemne) du cheptel qui constituent un écart par rapport aux exigences de la Directive européenne :

- (1) requalification du troupeau pour un animal présentant un résultat d'IDC « petit douteux »⁵ et dont les conclusions de l'analyse du contexte épidémiologique sont favorables ;
- (2) requalification du troupeau pour un animal présentant un résultat d'IDC « petit douteux », dont les conclusions de l'analyse du contexte épidémiologique sont défavorables, mais dont le résultat du test IFN γ est négatif.
- (3) requalification du troupeau pour un animal présentant un résultat d'IDC « grand douteux », dont les conclusions de l'analyse du contexte épidémiologique sont favorables, mais dont le résultat du test IFN γ est négatif.

❖ **Protocole décisionnel appliqué en Dordogne**

Zonage et campagne de prophylaxie :

Depuis 2007, un zonage a été mis en place par arrêté préfectoral (AP 21/11/07). La zone dite « à risque » (« zone noire ») regroupe les cantons dans lesquels sont localisés la majorité des foyers. Elle est soumise à une prophylaxie annuelle obligatoire (dépistage par IDS avec lecture subjective [c'est-à-dire non réalisée à l'aide d'un cutimètre⁶]), ainsi que quelques autres communes proches de cette zone. Le reste du département est soumis à un rythme de prophylaxie biennal par IDS.

Le test IFN γ a été utilisé à titre expérimental en Dordogne depuis avril 2007. Ce test est réalisé systématiquement après l'observation d'une IDS non négative (incluant les IDS positifs), afin de pouvoir lever (éventuellement), le blocage des cheptels concernés plus rapidement que par l'usage d'une IDC six semaines après l'IDS initiale.

Description du protocole de dépistage :

Le protocole décisionnel de dépistage appliqué au cours des campagnes de prophylaxie 2009-2010 et 2010-2011 en Dordogne est présenté en Annexe B. Le test IFN γ était réalisé systématiquement et immédiatement sur les animaux ayant fourni un résultat non négatif à l'IDS. Les utilisations du test IFN γ ayant conduit au maintien ou à la requalification de cheptels, qui sont non conformes à la réglementation européenne, ont été les suivantes :

- Un résultat négatif du test IFN γ conduisait au maintien de la qualification indemne du cheptel (cf. Annexe B, sortie A) ;
- Un résultat divergent entre tests IFN γ PPD et IFN γ recombinants, si la PPD fournissait un résultat positif⁷ entraînait la réalisation d'une expertise par la DDCSPP (tests complémentaires et étude du contexte/lien épidémiologique, suivi sanitaire et antécédents) ;
 - si les conclusions de l'expertise étaient favorables, le cheptel était
 - soit directement « requalifié » (cf. Annexe B, sortie B),
 - soit soumis à un recontrôle par test IFN γ pour les animaux ayant donné des résultats divergents au test IFN γ (cf. Annexe B, sortie C3) ;
 - si les conclusions de l'expertise étaient défavorables, alors étaient réalisés (cf. Annexe B, sortie C1) :
 - un recontrôle par test IFN γ pour les animaux à résultats IFN γ divergents
 - ainsi qu'une IDC sur un lot d'animaux (25% du cheptel, 25 animaux minimum).

⁵ La note de service DGAL/SDSPA/N2010-8305 définit deux types de réactions douteuses observables par la technique d'IDC :

- les « petits douteux » : la réaction à la tuberculine bovine est comprise entre 2 et 4 mm. La différence entre la réaction à la PPD bovine et celle à la PPD aviaire se situe entre 1 et 4 mm.
- les « grands douteux » : la réaction à la tuberculine bovine est supérieure à 4 mm. La différence entre la réaction à la PPD bovine et celle à la PPD aviaire se situe entre 1 et 4 mm.

⁶ La réalisation d'un test ID, quelqu'en soit le mode de lecture (objective ou subjective), est fortement dépendante de l'opérateur. La standardisation de ce test est donc difficile et imparfaite quelles que soient les tentatives de standardisation mises en œuvre jusqu'alors..

⁷ Un résultat divergent entre tests IFN γ PPD et IFN γ recombinants, si les recombinants fournissaient un résultat positif, conduisait à maintenir la suspicion et à réaliser un abattage diagnostique des animaux réagissants ; ce traitement est conforme à la réglementation européenne.

❖ **Protocole décisionnel appliqué en Camargue**

En Camargue, le test IFN γ (au moyen du kit BovigamND) est utilisé annuellement en prophylaxie, de manière systématique sur tous les bovins âgés de plus de 24 mois, à la place de l'ID depuis 2009. Cette dernière n'est plus utilisée en « routine » en raison des caractéristiques propres à la production bovine dans cette région qui compliquent la réalisation, la lecture et l'interprétation de l'ID. Aux dires des responsables de la lutte sur le terrain, le test IFN γ en première intention a permis d'assurer la faisabilité du dépistage et d'obtenir une assez bonne sensibilité du dépistage dans un milieu relativement infecté par *M. bovis*.

❖ L'application de ces protocoles décisionnels expérimentaux a permis la gestion de la tuberculose bovine dans trois zones présentant une situation épidémiologique particulière.

Toutefois, l'utilisation qui a ainsi été faite du test IFN γ dans certains cas (*cf. supra*) a également permis la restitution d'une qualification officiellement indemne à des troupeaux, en écart avec les préconisations de la réglementation européenne, ce qui a conduit à la circulation d'animaux « non conformes » au sein de l'Union européenne.

Au bilan : les principales motivations de l'utilisation du test IFN γ dans chaque zone, évoquées par les acteurs de terrain sont les suivantes :

la réalisation d'une IDC à la suite d'une ID non négative conduit à un blocage de l'élevage pendant 6 semaines (intervalle réglementaire entre deux ID) et induit donc de sévères pertes économiques pour les éleveurs, notamment des troupeaux allaitants. L'utilisation « en série » du test IFN γ pratiqué le jour de la lecture de l'ID permet de réduire considérablement le temps de blocage (5 jours au lieu de 6 semaines environ) et de diminuer les pertes pour les élevages négatifs à ce test.

En Côte-d'Or : la taille élevée des troupeaux, associée probablement à la présence importante de mycobactéries atypiques conduit à un nombre considérable de réactions non spécifiques (*cf. Annexe G*) et nécessitait donc particulièrement une amélioration de la spécificité du dépistage.

En Dordogne : la moins grande spécialisation de l'élevage (petites exploitations, poly-élevage, polyculture) associée à la difficulté de contention des animaux de race limousine avait conduit à une grande démotivation des acteurs de terrain. Le recours au test IFN γ a permis de relancer la prophylaxie de la tuberculose bovine.

En Camargue : la dangerosité de la contention des animaux de combat avait entraîné un arrêt de la prophylaxie de la tuberculose. La relative facilité de la réalisation d'un prélèvement sanguin pour le test IFN γ (en comparaison de l'ID) a permis la reprise du dépistage dans cette région.

2. Informations sur l'utilisation du test IFN γ nécessaires à l'expertise

Les éléments pris en considération par les experts du GT « Tuberculose-test interféron gamma » et du CES « SANT » pour nourrir l'expertise et répondre aux questions de la saisine ont été de nature bibliographique et épidémiologique (analyse des données collectées dans trois zones à risque durant plusieurs campagnes de prophylaxie et opérations de police sanitaire par le laboratoire EPI-MAI).

2.1 Revue bibliographique

L'objectif de la revue bibliographique réalisée par le GT « Tuberculose-test interféron gamma » a été de synthétiser les principales données de la littérature sur les valeurs de sensibilité (Se) et de spécificité (Sp) des tests IFN γ utilisant comme antigènes soit la PPD (IFN γ PPD) soit des antigènes

recombinants (IFN γ recombinants) avec le kit BovigamND tels que pratiqués sur le terrain⁸, que le test soit utilisé concomitamment (usage « en parallèle ») ou à la suite (usage « en série ») d'une ID.

Cette synthèse bibliographique n'a pas vocation à être exhaustive. Une revue bibliographique plus large a été réalisée par le AHVLA (Animal Health and Veterinary Laboratories Agency) pour le DEFRA (Department of Environment, Food and Rural Affairs - UK Government) (Downs et al., 2011) puis complétée dans le cadre d'un groupe de travail de l'EFSA. Il conviendra donc de se référer à l'avis de l'EFSA qui sera rendu fin 2012.

2.1.1 Méthodologie

Une recherche utilisant les mots-clés « interferon sensitivity bovine tuberculosis », « interferon specificity bovine tuberculosis » et « Bovigam bovine tuberculosis » a été réalisée. Les publications sélectionnées s'intéressaient à l'espèce bovine :

- et évaluaient la sensibilité et/ou la spécificité de l'IFN γ dans des conditions du terrain,
- et/ou comparaient les résultats d'ID et du test IFN γ ,
- et/ou étudiaient les facteurs pouvant impacter les résultats d'un test IFN γ effectué dans des « conditions de terrain ⁴ ».

Les articles dont le sujet correspondait à l'amélioration *in vitro* du test (présentant par exemple la cinétique des réponses IFN γ ou les différentes réponses obtenues en fonction des antigènes utilisés) ou à la différenciation animaux vaccinés/animaux non vaccinés ont été exclus.

Par ailleurs, tous les articles pris en compte ont été publiés durant la période 2000-2012, les articles publiés avant 2000 n'étant quasiment jamais disponibles en ligne.

Au total, vingt-trois articles ont fait l'objet de cette étude et les informations suivantes ont été systématiquement relevées :

- pays d'étude,
- population d'étude (c'est-à-dire : nombre d'animaux prélevés et niveau de prévalence attendu),
- tests utilisés et seuils de positivité du test IFN γ ,
- type d'utilisation (série ou parallèle et, dans le cas d'une utilisation « en série », délai séparant le test IFN γ de l'ID préalable),
- critères de définition de l'état d'infection (« gold standard »),
- famille de méthode statistique (fréquentiste ou bayésienne),
- valeurs de sensibilité (Se) et spécificité (Sp) individuelles estimées, et le cas échéant, facteurs d'influence étudiés (*cf.* Annexe D).

Aucune méta-analyse n'a été effectuée.

2.1.2 Conditions d'utilisation du test IFN γ

Le test IFN γ peut être utilisé « en série » ou « en parallèle » à l'ID. A la connaissance des experts, aucun pays ne l'utilise seul, en première intention, à l'exception de la France (Camargue).

La publication de De la Rua-Domenech *et al.* (2006) présente les différentes pratiques de sept pays non officiellement indemnes de tuberculose bovine en 2006 (Tableau I). L'usage « en parallèle » est le plus fréquent : il permet d'augmenter la sensibilité du dispositif de dépistage en considérant comme infecté tout animal positif en ID et/ou au test IFN γ .

L'usage « en série » permet quant à lui d'augmenter la spécificité de ce dispositif en ne considérant comme infecté qu'un animal positif au test IFN γ ayant au préalable présenté un résultat non négatif en ID. Cet usage « en série » est autorisé en Nouvelle-Zélande et aux États-Unis en remplacement d'une IDC afin de déterminer le statut d'animaux positifs en IDS provenant de cheptels supposés indemnes.

⁸ Le terme « en conditions de terrain » signifie que les animaux utilisés ne sont pas à statut « contrôlé », ce contrôle correspondant à l'application d'une méthode de référence. Les données disponibles sont en effet des données de surveillance et non des données d'expérimentation. La détermination de la composition des échantillons est donc réalisée *a priori* en fonction notamment du statut de la zone ou du troupeau dont ils sont issus.

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

En Europe, seul l'usage « en parallèle » est reconnu par la Directive CE/64/432. Pourtant, l'usage « en série » est parfois utilisé, notamment au Royaume-Uni dans les troupeaux à faible risque où les réactions positives à l>ID sont apparemment dues à des mycobactéries atypiques (DEFRA, 2009). Toutefois, cette utilisation « en série » reste très limitée : d'après le DEFRA, entre le 1^{er} janvier et le 31 mars 2012, 11 247 tests IFN γ « en parallèle » ont été réalisés au Royaume-Uni contre seulement 134 « en série ».

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Tableau 1 extrait et traduit de De la Rua-Domenech *et al.*, 2006 : Exemples d'utilisation « en série » et « en parallèle » du test IFN γ BovigamND

Pays	Test de dépistage de la tuberculose utilisé en première intention	Utilisation du test IFN γ (Bovigam)	
		Utilisation « en parallèle » chez les bovins ID négatifs en vue d'augmenter la sensibilité du dépistage (« toute interprétation positive »)	Utilisation en série pour les bovins ayant une réaction douteuse à l'ID en vue d'augmenter la spécificité du dépistage ⁹
Nouvelle Zélande	IDS caudale ¹⁰	1) Troupeau infectés (infection aiguë ou chronique), réduction du délai d'éradication ¹¹ . 2) Dépistage avant mouvement d'un bovin de plus de six mois d'un cheptel infecté.	1) Pour tout animal ayant réagi au test mis en œuvre en première intention. 2) Également appliqué en circonstances exceptionnelles pour des troupeaux de statut infecté ou suspect d'infection.
États-Unis	IDS caudale	1) En alternative à l'abattage total de l'ensemble des troupeaux infectés.	1) Dans les troupeaux bovins présumés indemnes de tuberculose, pour re-tester les animaux ayant réagi de façon supposée non spécifique au test de première intention.
Afrique du Sud	IDS caudale	1) Troupeaux de buffles ou de bovins infectés de façon aiguë ou chronique ¹² .	
Italie	IDS cervicale	1) Troupeaux de bovins ou de buffles d'eau infectés de façon aiguë ou chronique.	
République d'Irlande	IDC	1) Troupeaux infectés (infection aiguë ou chronique), réduction du délai d'éradication. 2) Dépistage possible de troupeaux voisins de foyers de tuberculose confirmés (essai pilote).	1) En cas de suspicion de réaction non spécifique à l'IDC, en utilisant un seuil plus élevé et des antigènes spécifiques de <i>M. bovis</i> .
Irlande du Nord	IDC	1) Dans le cadre d'un projet pilote pour aider à la détection des bovins infectés dans les troupeaux « à problèmes » avec une infection chronique (troupeaux recrutés sur la base du volontariat (et animaux testés positifs retirés).	1) Dans le cadre d'un essai volontaire, dans un certain nombre de troupeaux indemnes de tuberculose pris au hasard, afin d'évaluer la spécificité des tests.
Grande Bretagne	IDC	1) Dans les foyers confirmés de tuberculose où des réactions positives sont observées à la suite d'ID pratiquées à 60 jours d'intervalles. 2) Dans les foyers de tuberculose « aigus », comme alternative à l'abattage total ou partiel. 3) Dans les nouveaux foyers confirmés de tuberculose en dehors de zones d'enzootie de tuberculose.	1) Dans les troupeaux dans lesquels des animaux ont réagi à une ID, dont l'infection est non confirmée, sans antécédents d'infection et situés dans des zones de faible prévalence de tuberculose, i.e, où des réactions non spécifiques à l'ID sont suspectées ¹³ . 2) Rapide ret-test du bétail pour lequel des réactions cutanées anormales à la tuberculine bovine ont été relevées.

⁹ Échantillons de sang collectés entre 13 et 33 jours après les injections de tuberculine.

¹⁰ Également mis en œuvre avant mouvement de bétail.

¹¹ Qualification des cheptels choisis selon les critères énoncés dans la publication Anon., 2005., Annual Report for the Year Ending 30 June 2005. AnimalHealth Board, Wellington.

¹² Échantillons de sang collectés entre 3 et 30 jours après injection de tuberculines.

¹³ Pour une utilisation en série du test IFN γ , le BovigamND est réalisé avec les tuberculines aviaires et bovine, les antigènes définis de mycobactéries ESAT-6 et CFP-10 des peptides synthétiques dérivés de séquences d'ESAT-6 et CFP-10.

2.1.3 Caractéristiques intrinsèques du test IFN γ

L'étude bibliographique sur l'utilisation des tests IFN γ est riche mais, compte tenu de la diversité :

- des types de tests utilisés dans les différents pays (type de PPD [CSI ou Lelystad] ou type de recombinants...) et des seuils de positivité choisis ;
- des modalités de détermination de leurs caractéristiques (et notamment de celle des tests de référence [bactériologie *versus* PCR *versus* tests de terrain]) ;
- des conditions dans lesquelles les études de ces caractéristiques ont été conduites, conditions pouvant influencer sur les résultats obtenus (expérimentation *versus* conditions de terrain ; races différentes, type d'élevage, importance des mycobactéries atypiques, zone à risque ou zone indemne...) ;
- des modalités très différentes de l'utilisation de ce test (« en parallèle » ou « en série ») ;

il est difficile de comparer réellement les résultats des caractéristiques des tests IFN γ ou de les extrapoler au contexte français. Certains points convergents peuvent cependant être dégagés (*cf. infra*).

❖ Évaluation de la sensibilité individuelle (en population infectée)

Quatre revues¹⁴ et dix études¹⁵ évaluant la sensibilité du test IFN γ en conditions de terrain ont été analysées (Annexe D). La sensibilité a été définie comme la proportion d'animaux infectés donnant une réponse positive au test. Dans la plupart des études, le statut « infecté » était défini par un résultat positif à la culture bactérienne, même si dans d'autres études, une histologie positive, une PCR positive ou une combinaison de critères épidémiologiques et de résultats positifs en ID pouvaient aussi être utilisés pour définir le statut infecté. Seules deux études (Alvarez *et al.*, 2012 et Clegg *et al.*, 2011) ont réalisé l'estimation de sensibilité dans un contexte bayésien et ont donc considéré le statut infecté comme un état « caché » et non comme un état défini par un résultat positif en culture bactériologique, histologie et/ou PCR.

La sensibilité rapportée (pour une utilisation « en série » ou « en parallèle » du test) dans les dix études **pour l'IFN γ PPD** s'étendait de 65% à 98% avec une médiane de 88%. Il faut noter que les valeurs estimées dans un cadre bayésien sont plus basses que celles estimées dans un cadre fréquentiste : de 63,1% à 79,3% pour Clegg *et al.* (2011) et de 83,5% à 90% pour Alvarez *et al.* (2012), selon les critères d'interprétation des différents tests. Toutefois, la sensibilité du test IFN γ restait supérieure à la sensibilité de l'IDS estimée dans ces mêmes études. Ces valeurs (Se = 65% à 98%, avec une médiane de 88%) sont cohérentes avec les valeurs de sensibilité du test IFN γ PPD rapportées dans les revues¹⁶ de De la Rúa-Domenech *et al.* (2006) (Se = 73% à 100%, avec une médiane de 87,6%), Vordermeier *et al.* (2004) (80,9% à 100%, avec une médiane de 88,4%) et Wood et Jones (2001) (55,4-100%, avec une médiane de 88,8%).

La sensibilité du test **IFN γ avec antigènes recombinants** est mal documentée : seules trois études et une revue de notre panel la renseignaient. Pour Buddle *et al.* (2001), la sensibilité de l'IFN γ avec antigènes recombinants (protéine recombinante ESAT-6 produite en *Escherichia coli* et purifiée par chromatographie d'affinité sur métal - 2 μ g/ml) était de 84% pour un seuil de positivité de 0,1 (Densité Optique ESAT-6 - Densité Optique témoin négatif) et 88% pour un seuil de 0,4, soit inférieure de près de 10% à celle de l'IFN γ PPD estimée dans leur étude. Wood & Jones, 2001, rapportaient également une sensibilité du test IFN γ ESAT-6 inférieure à celle de de l'IFN γ PPD, à 76,3%. Cependant, dans l'étude de Faye *et al.* (2011), la sensibilité optimale de l'IFN γ avec antigènes recombinants (peptides recombinants ESAT6 et CFP10 de *Statens Serum Institut* - 5 mg/ml) était de 97% (89-100), équivalente à celle de l'IFN γ PPD estimée dans cette même étude. Ces valeurs contrastent fortement avec les résultats de Coad *et al.* (2008) : sur 20 animaux infectés, seuls 11 ont donné une réponse positive au test IFN γ avec antigènes recombinants (cocktail de peptides contenant 21 peptides couvrant entièrement la séquence des ESAT-6 et CFP10 - 5 μ g/ml/peptide), ce qui signifierait

¹⁴ Les 4 revues sont : de la Rúa-Domenech *et al.*, 2006, Gormley *et al.*, 2006, Vordermeier *et al.*, 2006 et Wood *et al.*, 2000.

¹⁵ Les 10 études sont : Alvarez *et al.*, 2012 ; Antognoli *et al.*, 2011 ; Buddle *et al.*, 2001 ; Clegg *et al.*, 2011 ; Coad *et al.*, 2008 ; Faye *et al.*, 2011 ; Gormley *et al.*, 2006 ; Marassi *et al.*, 2010 ; Ryan *et al.*, 2000 et Scacchia *et al.*, 2000.

¹⁶ Il est à noter que trois des dix études présentées ici (Buddle *et al.*, 2001 ; Ryan *et al.*, 2000 ; Scacchia *et al.*, 2000) ont également été analysées dans les deux premières revues citées (de De la Rúa-Domenech *et al.*, 2006 et Vordermeier *et al.*, 2004).

une sensibilité de 55%. Cependant, étant donné les faibles effectifs en animaux et le type d'antigènes, ces résultats ne doivent sans doute pas être généralisés.

❖ Évaluation de la spécificité individuelle (en population indemne)

Quatre revues (les mêmes que précédemment) et treize¹⁷ études évaluant la spécificité du test IFN γ en conditions de terrain ont été analysées (Annexe D). La spécificité a été définie comme la proportion d'animaux indemnes donnant des résultats négatifs au test de dépistage.

Dans dix des treize publications, la population d'étude se composait d'animaux provenant de troupeaux ou zones dont la prévalence attendue était nulle (troupeaux et/ou zones supposés indemnes). Les valeurs de spécificité rapportées **pour le test IFN γ PPD dans ces zones indemnes** s'étendaient de 73,3% à 98,7%, avec une médiane de 93,0%. Cinq études utilisaient le test IFN γ « en parallèle » (Sp médiane = 95,0%) contre sept « en série » (Sp médiane = 89,9%). Dans les trois articles portant sur une population infectée, les valeurs de spécificité étaient de 85,7 à 90,4% pour Alvarez *et al.* (2012) (statut de 6202 bovins analysé dans un cadre bayésien), de 85,7% pour Coad *et al.* (2008) (statut de 174 bovins négatifs en ID mais provenant de troupeaux infectés ; analyses dans un cadre fréquentiste) et de 86,7% pour Marassi *et al.* (2010) (statut de 50 bovins d'un même troupeau analysé dans un cadre fréquentiste).

Ces valeurs (Sp = 73,3% à 98,7% avec une médiane de 93,0%) sont cohérentes avec les valeurs de spécificité du test IFN γ PPD rapportées dans les revues de De la Rua-Domenech *et al.* (2006) (85% à 99,6% avec une médiane de 96,6%), Vordermeier *et al.* (2004) (87,7% à 99,2%, avec une médiane de 96,6%) et Wood et Jones (2001) (96,3 et 98%). Il est à noter la valeur de spécificité particulièrement basse rapportée par Faye *et al.* (2011) (73,3% avec un intervalle de confiance à 95% de 69.4-77.0%). Cependant leur étude a été réalisée dans une population particulière d'animaux considérés comme indemnes mais positifs en ID. Des populations d'étude aux caractéristiques similaires ont été étudiées par Ryan *et al.* (2000), Buddle *et al.* (2001) et Aagaard *et al.* (2010) mais ceux-ci ont obtenu des valeurs de spécificité plus élevées : respectivement 93% (89-96), 85-94% (fonction du seuil) et 94,3-98,7% (fonction du pays d'étude).

En ce qui concerne le **test IFN γ avec antigènes recombinants**, trois études et une revue ont évalué sa spécificité. Selon Buddle *et al.* (2001), la spécificité du test IFN γ ESAT-6 était de 100%. Wood & Jones, 2001, rapportaient également une spécificité du test IFN γ ESAT-6 très élevée, à 99,2%. Pour Faye *et al.* (2011), la spécificité du test IFN γ ESAT-6/CFP10 était de 95,9% (93.8-97.5) pour un seuil de 0.01 sur 492 animaux a priori indemnes et négatifs en ID et de 93,1% (90.6-95.0) pour un seuil de 0.04 sur 578 animaux a priori indemnes mais positifs en ID. Aagaard *et al.* (2010) ont évalué la spécificité du test IFN γ (protéines recombinantes ESAT-6 et CFP10 produites en *Escherichia coli* et purifiées par chromatographie d'affinité sur métal - 4 μ g/ml) sur animaux positifs en ID à 98,7% pour leurs échantillons mexicains et 100% pour leurs échantillons argentins.

La spécificité du test IFN γ avec antigènes recombinants est donc supérieure à celle du test IFN γ PPD d'après les éléments disponibles dans les articles étudiés.

❖ Corrélation entre résultats des tests ID et IFN γ

Comme l'expliquent Vordermeier *et al.* (2004), il ne faut pas s'attendre à ce que tous les animaux positifs en ID soient positifs au test IFN γ PPD, ni à ce que tous les animaux négatifs en ID soient négatifs en IFN γ PPD. Pour ces auteurs, la population des animaux infectés se répartit en une majorité d'animaux ID+/IFN γ + mais comprend également des animaux ID-/IFN γ +, ID+/IFN γ - et ID-/IFN γ - (Figure 3).

Gormley *et al.* (2006), ont montré que les individus ID-/IFN γ + ont une probabilité sept à neuf fois plus importante de devenir positifs à une tuberculination ultérieure que les animaux négatifs au test IFN γ . D'après De la Rua-Domenech *et al.* (2006), la réponse au test IFN γ serait en effet plus précoce (1-5 semaines post-infection) que la réponse à la tuberculination (3-6 semaines post-infection). Vordermeier *et al.* (2004) préconisent donc l'emploi du test IFN γ PPD « en parallèle » à la tuberculination dans les zones à forte prévalence ou à infection persistante.

¹⁷ Les 13 études sont : Aagaard *et al.*, 2010 ; Alvarez *et al.*, 2012 ; Antognoli *et al.*, 2011 ; Buddle *et al.*, 2001 ; Cagiola *et al.*, 2004 ; Clegg *et al.*, 2011 ; Coad *et al.*, 2008 ; Faye *et al.*, 2011 ; Gormley *et al.*, 2006 ; Lauzi *et al.*, 2000 ; Marassi *et al.*, 2010 ; Ryan *et al.*, 2000 et Scacchia *et al.*, 2000.

Aagard *et al.* (2010) plaident également pour l'emploi du test IFN γ « en parallèle » à la tuberculination afin d'accélérer l'éradication de la tuberculose. Dans leur étude, 60% des animaux négatifs en ID mais venant de troupeaux à forte prévalence attendue (>5%) sont positifs au test IFN γ PPD et antigènes recombinants (mélange ESAT-6 et CFP10), et seraient donc de faux-négatifs. Selon ces auteurs, la corrélation entre ID positive et test IFN γ positif est bonne dans troupeaux à forte prévalence attendue, mais mauvaise dans les troupeaux à faible prévalence attendue (<1%). Dans ces troupeaux, même si une proportion de 60% des animaux positifs en ID a été trouvée positive en IFN γ PPD, seuls 15,5% étaient positifs en IFN γ antigènes recombinants. La corrélation entre résultats positifs en IFN γ PPD et en IFN γ antigènes recombinants est donc faible dans les troupeaux à faible prévalence. Pour Aagard *et al.* (2010) les animaux de ces troupeaux positifs en ID et IFN γ PPD seraient de faux-positifs, du fait principalement de leur exposition à des mycobactéries autres que *M. bovis*. Ceci amène ces auteurs à préconiser l'emploi des antigènes recombinants dans les troupeaux à faible prévalence attendue. Molicotti *et al.* (2011), ont également souligné l'intérêt des antigènes recombinants dans le diagnostic de la tuberculose bovine.

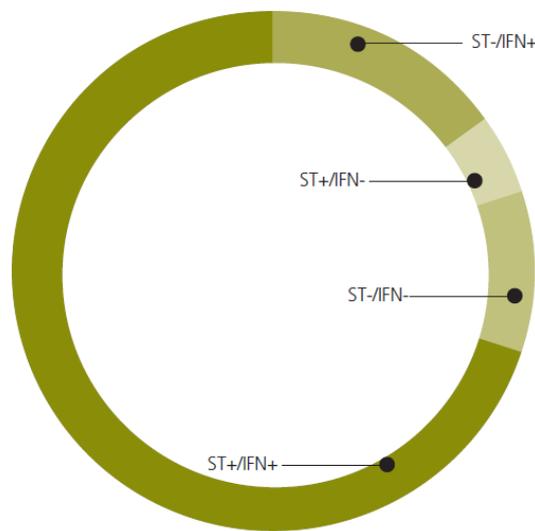


Figure 3, d'après Vordermeier *et al.*, 2004 : Résultats de tuberculinations et du test IFN γ (BovigamND) utilisés « en parallèle » dans une population infectée
(cette population est composée d'animaux présentant des lésions évocatrices de tuberculose bovine et/ou un résultat positif à la culture de *M. bovis*). ST = Skin Test (= ID)

❖ **Comparaison des sensibilités et spécificités de l'ID et du test IFN γ**

Quatre études évaluent la sensibilité et/ou la spécificité individuelle de l'ID et du test IFN γ PPD sur le même jeu de données. Les résultats sont présentés dans le tableau 2 ci-dessous. Globalement, la sensibilité du test IFN γ est supérieure à celle de l'ID mais sa spécificité est inférieure.

Tableau 2 : Comparaison des caractéristiques individuelles de l'ID et du test IFN γ BovigamND

Étude	Population d'étude	Test(s) utilisé(s)	ID		IFN γ	
			Se	Sp	Se	Sp
Alvarez <i>et al.</i> , 2012 Espagne	6202 BV de 42 trpx avec historique de TB	IDS encolure IFN γ PPD Bovigam ND	Se : mode de 53.0% (27.3-81.5) à 69.4% (40.1-92.2) selon critères interprétation	Modèle Bayésien Sp : mode de 99.3% (98.6-99.8) à 99.7% (99.1-100) selon critères interprétation	Se : mode de 83.5% (73.6-91.6) à 90% (78.9-96.7) selon critères interprétation	Modèle Bayésien Sp : mode de 85.7% (84.3-88.0) à 90.4% (89.1-92.7) selon critères interprétation
Clegg <i>et al.</i> , 2011 Irlande	"low risk areas" : 2197 BV venant de 136 trpx	IDC IFN γ PPD Bovigam ND	Interprétation IDC standard (selon les 5 seuils Enterflex) : Se relative moyenne= 56.8 (52.9-60.8) à 67.5% (62.9-72.0)	Modèle Bayésien Interprétation IDC standard : Sp relative moyenne= 99.5% (99.1-99.8)	Interprétation IDC standard (selon les 5 seuils Enterflex) : Se relative moyenne= 66.7 (63.1-70.1) à 76.2% (72.8-79.3)	Modèle Bayésien Interprétation IDC standard (selon les 5 seuils Enterflex) : Sp relative moyenne= 88.1 (86.8-89.4) à 87.9% (86.4-89.3)
	"high risk areas" : 2740 BV venant de 126 trpx					
Gormley <i>et al.</i> , 2006 Irlande	767 BV infectés	IDC IFN γ PPD Bovigam ND	Se = 60%, si interprétation standard Se = 74%, si interprétation sévère		Se = 88%	
	1147 BV de 21 trpx indemnes					
Scacchia <i>et al.</i> , 2000 Italie	138 BV infectés pour ID 36 BV infectés pour IFN γ	IDS encolure IFN γ PPD Bovigam ND	Se = 70.3% (61.8-77.6)		Se = 91.7% (76.4-97.8)	
	70 BV indemnes de 9 trpx différents					

Abréviations : anx = animaux ; BV = bovins ; trpx = troupeaux.

❖ Facteurs pouvant influencer les résultats du test IFN γ

Quatre revues¹⁸ et huit¹⁹ études évaluant l'impact de différents facteurs sur la réponse au test IFN γ (Annexe E) ont été analysées. Les facteurs les plus étudiés sont la réalisation d'une ID quelques jours avant le prélèvement sanguin qui sera soumis au test IFN γ au laboratoire, et le temps de stockage de ce prélèvement avant la réalisation du test. Si les résultats des études sont parfois divergents, il semble qu'une IDS ou IDC réalisée à l'encolure 3 à 65 jours avant le prélèvement sanguin n'ait pas d'influence majeure sur la réponse ultérieure au test IFN γ . Ceci ne serait pas le cas d'une IDS caudale, qui augmenterait cette réponse. Il faut préciser que toutes les études documentant l'influence d'une IDS caudale sur la réponse au test IFN γ ont été menées sur des animaux infectés expérimentalement, ce qui n'est pas toujours le cas des études concernant les ID réalisées à l'encolure. La divergence des résultats entre articles semblerait donc s'expliquer par des conditions d'étude différentes (selon Schiller *et al.* 2010, pas d'effet d'une IDC cervicale sur la réponse IFN γ chez les animaux naturellement infectés mais modification de cette réponse par une IDS caudale ou une IDC cervicale chez les animaux infectés expérimentalement).

De plus, l'influence d'IDC répétées (i.e. 3 ou 5 IDC à 8 semaines d'intervalle) sur la réponse IFN γ a été évaluée dans différentes études, sur des animaux infectés expérimentalement ou naturellement. Selon les différents auteurs cités par Schiller *et al.*, ces IDC répétées n'influenceraient pas les performances du test IFN γ . En outre, en pratique aucune remontée négative du terrain n'a été relevée.

¹⁸ Les 4 revues sont : Gormley *et al.*, 2006 ; De la Rua-Domenech *et al.*, 2006 ; Schiller *et al.*, 2010 et Vordermeier *et al.*, 2006.

¹⁹ Les 8 études sont : Aagaard *et al.*, 2010 ; Cagiola *et al.*, 2004 ; Coad *et al.*, 2007 ; Gormley *et al.*, 2004 et 2006 ; Ryan *et al.*, 2000 ; Waters *et al.*, 2007 et Whipple *et al.*, 2001.

Par ailleurs, le stockage d'un prélèvement sanguin durant 24 heures avant la réalisation du test au laboratoire diminuerait la réponse au test IFN γ sans toutefois entraîner de modification majeure de l'interprétation du résultat en termes de positivité/négativité au test. Vordermeier *et al.* (2004) signalent par ailleurs qu'un stockage d'une nuit du prélèvement permettrait d'augmenter significativement la spécificité du test au prix d'une baisse modérée de sensibilité. Toutefois, selon Gormley *et al.* (2004), seuls 51,7% des animaux négatifs en ID mais positifs à un test IFN γ effectué 8h après le prélèvement sanguin sont trouvés positifs à ce même test s'il est effectué 24h après le prélèvement.

2.1.4 Bilan

D'après les éléments bibliographiques étudiés, bien que les limites méthodologiques précédemment évoquées conduisent à la prudence quant à l'extrapolation à d'autres contextes des résultats des études publiées, il apparaît que :

- L'usage « en parallèle » du test IFN γ et d'une ID permet d'augmenter la sensibilité du dispositif de dépistage. Donc, le test IFN γ PPD « en parallèle » à la tuberculination est préconisé dans les troupeaux à forte prévalence attendue ou à infection persistante.
- L'usage « en série » du test IFN γ après une ID permet d'augmenter la spécificité de ce dispositif en ne considérant comme possiblement infecté qu'un animal à résultat positif en IFN γ ayant au préalable présenté un résultat non négatif en ID (un animal ayant fourni une réponse positive à un test IFN γ suite à une ID positive a donc une probabilité plus élevée d'être infecté que s'il a fourni un résultat négatif au test IFN γ).
- Les animaux ayant fourni une réponse positive à un test IFN γ et négative à une ID ont une probabilité élevée de fournir un résultat positif à une ID ultérieure.
- Le test IFN γ détecterait l'infection tuberculeuse plus précocement que l'ID.
- Malgré l'absence de recul, la réalisation d'ID à l'encolure avant le prélèvement sanguin qui sera soumis au test IFN γ ne semble pas influencer le résultat de ce test.

2.2 Analyse des résultats de l'étude conduite dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne et en Camargue (cf. Annexe F)

Le travail d'analyse des données collectées par les DD(SC)PP à partir des campagnes de prophylaxie et des opérations de police sanitaire en Côte-d'Or, Dordogne et Camargue a été réalisé dans le cadre d'une thèse de doctorat (laboratoire EPIMAI) et avec le soutien d'une convention de recherche et développement entre l'Anses et l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.

Trois campagnes de prophylaxie, de 2009 à 2012 ont été prises en considération. Il est à signaler que de nouvelles seringues à tuberculiner ont été introduites très progressivement pour la campagne 2011-2012.

L'utilisation du test IFN γ a été propre à chaque zone :

- En Côte-d'Or : deux types d'antigènes étaient utilisés simultanément pour la réalisation du test IFN γ :
 - Le kit BovigamND (Prionics) comprenant mélange antigénique (PPD) de *M. bovis* et un mélange antigénique de *M. avium* ;
 - Un antigène recombinant (ESAT-6)
- En Dordogne : deux types d'antigènes étaient utilisés simultanément pour la réalisation du test IFN γ :
 - Le kit BovigamND (Prionics)
 - Un « cocktail » d'antigènes recombinants (ESAT-6 et CFP-10) noté « recombinants » ensuite.
- En Camargue : le test IFN γ était réalisé en première intention au moyen du kit BovigamND (Prionics).

Les effectifs utilisés pour les estimations directes dans ce travail d'analyse des données sont précisés dans les tableaux 3 et 4 ci-dessous en fonction de la zone et du type de test utilisé.

Tableau 3 : Nombre de résultats disponibles pour le calcul direct des Se²⁰ individuelles et collectives de l'IDS, de l'IDC et de l'IFN dans les trois zones géographiques étudiées

Zone d'étude	Test utilisé	Résultats disponibles	
		Nombre de bovins infectés	Nombre de troupeaux infectés
Côte-d'Or	IDC	45	45
	IDS	23	33
	IFN	23	28
Dordogne	IDC	14	17
	IDS	18	21
	IFN	13	16
Camargue	IFN	21	21

Tableau 4 : Nombre de résultats disponibles pour le calcul direct des Sp²¹ individuelles et collectives de l'IDS, de l'IDC et de l'IFN dans les trois zones géographiques étudiées

Zone d'étude	Test utilisé	Résultats disponibles	
		Nombre de bovins indemnes	Nombre de troupeaux indemnes
Côte-d'Or	IDC	63 017	724
	IDS	63 017	724
	IFN	361	154
Dordogne	IDC	20	20
	IDS	36 252	934
	IFN	66	66
Camargue	IFN	9 606	179

2.2.1 Estimation directe des caractéristiques des tests de dépistage de la tuberculose bovine

- Limites de l'estimation directe des caractéristiques des tests

La première partie l'étude conduite dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne et dans la région de Camargue avait pour but de réaliser une estimation directe des sensibilités et des spécificités du test IFN γ dans ses conditions d'utilisation de terrain et de les comparer à celles des tests habituels (IDS et IDC). Ces estimations ont été faites en utilisant :

- comme référence positive, l'isolement de *Mycobacterium bovis* au LNR (laboratoire national de référence) (puis dans un second temps un résultat de PCR positif associé ou non à l'isolement de la mycobactérie) ;
- comme référence négative, l'appartenance à un cheptel indemne depuis plusieurs années (2000 en Dordogne, 2004 en Côte-d'Or et 2009 en Camargue) et ne présentant pas de risque épidémiologique particulier vis-à-vis de la tuberculose bovine.

L'isolement de *M. bovis* en culture a été choisi en tant que référence positive en raison de la spécificité parfaite de ce test (absence de résultats faussement positifs), mais la culture bactériologique présente toutefois l'inconvénient de ne pas être parfaitement sensible notamment en raison de la lenteur et de la délicatesse que nécessite la culture des mycobactéries. Par ailleurs, les animaux présentant des résultats positifs en culture constituent probablement une population particulière dans laquelle la maladie a évolué suffisamment longtemps pour qu'un isolement du germe à partir des nœuds lymphatiques ou de lésions macroscopiques soit possible. Ces deux points engendrent

²⁰ La sensibilité a été estimée *via* les données de prophylaxie collectées entre 2009 et 2012 pour les animaux ou cheptels de la zone rouge en Côte-d'Or ou noire en Dordogne.

²¹ La spécificité des tests a été étudiée entre 2009 et 2012 chez des animaux ou cheptels provenant d'élevages indemnes de tuberculose bovine, situés dans des zones géographiques à faible risque épidémiologique de tuberculose bovine (zones blanches de Côte-d'Or et Dordogne), dans lesquelles aucun foyer n'a été mis en évidence au cours de la période d'étude (voire depuis 2000 en Dordogne et 2004 en Côte d'Or) et n'ayant pas été en lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose au cours de cette même période.

un biais de sélection des animaux infectés et un biais dans l'estimation des caractéristiques des tests (surestimation des sensibilités des tests étudiés).

Pour chacune de ces estimations, les calculs ont été effectués à partir d'un nombre très limité d'animaux²², ce qui entraîne à la fois une piètre précision des résultats obtenus et une faible puissance statistique. L'utilisation d'une référence différente (PCR et/ou culture) n'a pas augmenté ces effectifs de manière notable et n'a donc pas réellement amélioré la précision.

Par ailleurs, les tests sont utilisés dans des contextes très particuliers (usage « en série », difficultés de contrôle des foyers de tuberculose, fréquence des mycobactéries atypiques en Côte-d'Or, bovins de combat en Camargue...). Seuls les résultats disponibles en Camargue permettaient une estimation, non conditionnelle d'un résultat préalable en ID, des caractéristiques du test IFN γ , ce qui interdit une comparaison des résultats obtenus dans ces deux contextes différents. En effet, en Côte-d'Or et en Dordogne, tous les animaux étudiés provenaient de cheptels dans lesquels des résultats non négatifs en ID (IDC pour la Côte-d'Or et ISD pour la Dordogne) avaient été observés, et avaient subi une ID trois jours avant la réalisation du prélèvement de sang pour le test IFN γ .

Enfin, pour les calculs de spécificité, même si les troupeaux utilisés comme référence négative étaient réglementairement indemnes depuis plusieurs années (2000 en Dordogne et 2004 en Côte-d'Or et 2009 en Camargue) et pour les départements de Côte-d'Or et de Dordogne, situés en zone non infectée, il est néanmoins toujours possible que l'un d'entre eux ait été infecté et n'ait pas encore été détecté. La confiance que l'on peut accorder à cette référence négative n'est donc pas parfaite.

Avant de procéder à toute interprétation de ces résultats, il est indispensable de garder à l'esprit ces points.

En raison des différences concernant le contexte épidémiologique de la maladie, le profil de la population testée et les modalités de réalisation des tests, les données provenant de chacune des trois zones géographiques ont été analysées séparément.

- Estimation de la sensibilité
 - Sensibilité des ID

Les sensibilités moyennes, individuelles et collectives (« troupeaux »), des ID étaient globalement plus élevées en Dordogne qu'en Côte-d'Or (cf. tableau 5 ci-dessous). Ces différences peuvent être expliquées par les modalités de mesure de la réaction (mesure du pli de peau en Côte-d'Or *versus* lecture subjective en Dordogne). La faible augmentation des sensibilités collectives par rapport aux sensibilités individuelles peut être expliquée par le faible nombre d'animaux infectés dans les élevages foyers (souvent un ou deux).

Tableau 5 : Se (valeurs moyennes) brute²³ et UE²⁴ des IDS et IDC individuelle et collective (« troupeau ») obtenues par estimation directe en Côte-d'Or et Dordogne

		Sensibilité (%)					
		Individuelle			IC95%	collective	
Côte-d'Or	IDS	Brute	70	[51-88]	Brute	72	[58-88]
		UE	87	[73-100]	UE	93	[86-100]
	IDC	Brute	64	[50-78]	Brute	80	[68-92]
		UE	98	[93-100]	UE	98	[93-100]
Dordogne	IDS	Brute	92	[76-100]	Brute	93	[79-100]
		UE	100	[78-100]	UE	100	[84-100]
	IDC	Brute	93	[79-100]	Brute	94	[83-100]
		UE	100	[78-100]	UE	100	[82-100]

(cf. Annexe F : pour la Dordogne : [cf. tableaux 27, 28, 31 et 32], pour la Côte-d'Or : [cf. tableaux 2, 3, 6, 7]).

²² Afin d'éviter le biais lié à l'effet troupeau (dépendance entre les animaux d'un même troupeau) un seul animal a été tiré au sort par troupeau, ce qui génère un autre biais (moins important) qui aurait pu être évité par un échantillonnage multiple (bootstrapping), non réalisé dans cette étude.

²³ Se Brute : les résultats douteux ont été considérés comme négatifs pour le calcul effectué.

²⁴ Se UE : les résultats douteux ont été considérés comme positifs pour le calcul effectué.

○ *Sensibilité du test IFN γ*

- En Côte-d'Or, la sensibilité individuelle du test utilisant le recombinant ESAT-6 était supérieure à celle du BovigamND (cf. tableau 6 ci-dessous). La faible sensibilité du BovigamND pourrait être liée à la nature de la PPD bovine utilisée (produite par CSL, Australie) réputée moins antigénique que la PPD produite à Lelystad (laboratoire CDI) (Schiller *et al.*, 2010). Une autre hypothèse est qu'en Côte-d'Or, le test IFN γ n'est réalisé que sur les animaux ayant obtenu un résultat douteux à l'ID (à l'exclusion des animaux ayant obtenu un résultat positif) ce qui minimise l'estimation de la sensibilité alors qu'en Dordogne le test IFN γ est effectué sur tous les animaux non négatifs (douteux et positifs). La sensibilité individuelle brute du test IFN γ global²⁵ était faible mais sa sensibilité individuelle « UE »²⁶ était satisfaisante et n'était pas significativement différente de celle de l'IDC ($p > 0,05$) (respectivement 55% et 91% [cf. Annexe F, tableau 25]).

Les sensibilités individuelles moyennes du test BovigamND et du test IFN γ global étaient plus élevées en Dordogne qu'en Côte-d'Or. Cette observation peut être mise en relation avec l'utilisation d'un seuil de positivité pour le BovigamND plus faible en Dordogne (0,03 ; exprimé à l'aide de la formule normalisée) qu'en Côte-d'Or (0,04) mais pourrait également être liée à la nature de la PPD bovine utilisée au laboratoire de Dordogne (au moins en 2011-2012) produite par Lelystad (laboratoire CDI) réputée plus antigénique que la PPD CSL, Australie (Schiller *et al.*, 2010).

Tableau 6 : Se (valeurs moyennes) individuelle brute et UE du test IFN γ , obtenues par estimation directe en Côte-d'Or et Dordogne (conditionnelle respectivement à la réalisation d'une IDC et d'une IDS)

	Sensibilité Individuelle (%)						
	IFN γ rec	IC95%	Bovigam ND		IFN γ global		
Côte-d'Or	Brute : 82	[66-98]	Brute : 65		Brute	55	[34-75]
					UE	91	[79-100]
Dordogne	Brute : 100	[77-100]	Brute : 92		Brute	92	[78-100]
					UE	100	[77-100]
Camargue			Brute	81	[64 ; 98]		
			UE	100	[85 ; 100]		

(cf. Annexe F : pour la Côte-d'Or : [cf. tableau 25] et pour la Dordogne : [cf. tableau 52]).

A l'échelle collective, la **sensibilité « troupeau »** du test BovigamND n'était pas significativement différente de celle du test utilisant ESAT-6 et sa valeur moyenne était même très légèrement supérieure ($p > 0,05$) ; le faible nombre d'animaux ayant servi à effectuer les calculs peut expliquer ce point qui diffère des résultats rapportés dans la bibliographie (à l'échelle individuelle). Dans la littérature, le test IFN γ est en effet considéré comme plus sensible que l'ID par plusieurs auteurs (Neill *et al.*, 1994 ; Wood et Jones, 2001 ; Pollock *et al.*, 2003), car le test IFN γ détecte les animaux infectés à un stade plus précoce que l'ID (avec un délai entre infection et détection compris entre une et cinq semaines pour l'IFN γ (Pollock *et al.*, 2003), contre 15 jours à 6 mois, avec une moyenne de 3 à 8 semaines pour l'ID (Francis, 1958). D'autre part, il a été prouvé que le délai entre l'infection et le moment auquel le test IFN γ est en mesure de la détecter n'est pas dépendant de la dose infectante (Dean *et al.*, 2005). Ces éléments sont intéressants car le test IFN γ serait susceptible de détecter une infection par de faibles doses de *M. bovis* dès ses premiers stades. Il présente probablement toutefois (tout comme l'ID) le désavantage de ne pas détecter les individus en phase d'anergie.

• Estimation de la spécificité

○ *Spécificité des ID*

En Côte-d'Or comme en Dordogne, la spécificité individuelle des tests ID était élevée (pour un diagnostic de tuberculose) (cf. tableau 7, 8 et 9). Les spécificités « troupeaux » des ID étaient significa-

²⁵ Interprétation « en parallèle » des résultats aux tests Bovigam® et ESAT-6 : le test IFN γ « global » est considéré positif si IFN γ PPD positif ou ESAT-6 positif.

²⁶ Résultats douteux assimilés à des résultats positifs, interprétation prévue par la réglementation européenne et appliquée sur le terrain.

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

tivement plus élevées en Dordogne qu'en Côte-d'Or ($p < 0,05$) (cf. tableaux 7, 8 et 9 ci-dessous), probablement en raison de la fréquence des réactions croisées avec des mycobactéries atypiques de l'environnement et de la grande taille des troupeaux de Côte-d'Or (fréquemment supérieure à 200 animaux, en particulier dans les troupeaux foyers de tuberculose).

Tableau 7 : Sp (valeurs moyennes) des IDS et IDC individuelle et collective (« troupeau ») obtenues par estimation directe en Côte-d'Or et Dordogne pour la campagne 2009-2010

		Spécificité (%)			
		Individuelle	IC95%	collective	IC95%
Côte-d'Or	IDS	96,74	[96,60-96,88]	46,54	[42,90-50,18]
	IDC	98,77	[98,68-98,86]	77,70	[74,67-80,74]
Dordogne	IDS	99,85	[99,81-99,89]	98,00	[97,10-98,90]

(cf. annexe F : pour la Côte-d'Or [cf. tableaux 4, 5, 8, 9] et pour la Dordogne [cf. tableaux 29, 30, 32, 33]).

Tableau 8 : Sp (valeurs moyennes) des IDS et IDC individuelle et collective (« troupeau ») obtenues par estimation directe en Côte-d'Or et Dordogne pour la campagne 2010-2011

		Spécificité (%)			
		Individuelle	IC95%	collective	IC95%
Côte-d'Or	IDS	96,32	[96,17-96,47]	56,80	[53,20-60,40]
	IDC	98,57	[98,48-98,66]	58,30	[54,70-61,90]
Dordogne	IDS	99,68	[99,62-99,74]	94,70	[93,20-96,10]

(cf. annexe F : pour la Côte-d'Or [cf. tableaux 4, 5, 8, 9] et pour la Dordogne [cf. tableaux 29, 30, 32, 33]).

Tableau 9 : Sp (valeurs moyennes) des IDS et IDC individuelle et collective (« troupeau ») obtenues par estimation directe en Côte-d'Or et Dordogne pour la campagne 2011-2012

		Spécificité (%)			
		Individuelle	IC95%	collective	IC95%
Côte-d'Or	IDS	96,30	[96,04-96,56]	62,77	[56,36-69,00]
	IDC	97,81	[97,61-98,01]	41,99	[35,63-48,35]
Dordogne	IDS	99,70	[99,40-100,0]	97,00	[91,00-100,0]
	IDC	95,00	[85,00-100,0]	95,00	[85,00-100,0]

(cf. annexe F : pour la Côte-d'Or [cf. tableaux 4, 5, 8, 9] et pour la Dordogne [cf. tableaux 29, 30, 32, 33]).

L'étude de l'évolution des spécificités « troupeau » de l'IDS et de l'IDC en Côte-d'Or au cours des trois campagnes de prophylaxie soulève des questions.

L'augmentation de la spécificité collective de l'IDS au cours des trois campagnes de dépistage (tableau 10 ci-dessous) peut être liée au fait que certains vétérinaires déclarent de moins en moins un pli de peau légèrement augmenté par l'injection de tuberculine bovine, en particulier dans les cheptels qui ont été sujets à des résultats faussement positifs les années précédentes. La diminution corrélée de la spécificité « troupeau » de l'IDC (tableau 5 de l'étude en Annexe F) tendrait à montrer que si la réaction à l'injection de tuberculine bovine est considérée comme positive par le vétérinaire, la mesure de la réaction à la tuberculine aviaire est réalisée avec soin. Il faut rappeler qu'une lecture objective par mesure du pli de peau est effectuée de manière systématique lors de la réalisation des IDC en Côte-d'Or. En Dordogne au contraire, la lecture des IDS est subjective (lecture « à la main »)

et l'incertitude de la lecture est de ce fait encore plus importante qu'avec une lecture réalisée au cutimètre.

Tableau 10 : Évolution de la Sp (valeurs moyennes) collective (« troupeau ») de l'IDS et de l'IDC obtenue par estimation directe en Côte-d'Or sur trois campagnes consécutives

		Spécificité collective (%)					
		2009-2010	IC95%	2010-2011	IC95%	2011-2012	IC95%
Côte-d'Or	IDS	46,5	[42,9-50,2]	56,7	[53,2-60,4]	62,7	[56,4-69,0]
	IDC	77,7	[74,7-80,7]	58,3	[54,7-61,9]	42,0	[35,6-48,4]

(cf. annexe F : tableaux 5 et 9).

○ *Spécificité du test IFN γ*

En Côte-d'Or et en Dordogne, les spécificités individuelle et collective du test IFN γ global étaient assez faibles, en raison de la faible spécificité du test BovigamND. Seul le test IFN γ utilisant des antigènes recombinants présentait une spécificité (individuelle et collective) correcte (ESAT-6) (cf. tableau 11 ci-dessous).

Tableau 11 : Sp (valeurs moyennes) des tests IFN γ (BovigamND, utilisant les antigènes recombinants, et global) individuelle et collective (« troupeau ») obtenues par estimation directe en Côte-d'Or, Dordogne et Camargue

		Spécificité (%)			
		Type d'IFN γ	Individuelle	IC95%	collective
Côte-d'Or	Bovigam ND	59,5	[53,4-64,6]	57,0	[49,1-64,9]
	Rec (ESAT6)	90,0	[86,9-93,1]	88,3	[83,2-93,4]
	global	57,0	[51,6-62,0]	53,4	[45,3-61,4]
Dordogne*	Bovigam ND	89,0	[82,0-97,0]	86,0	[78,0-95,0]
	Rec	86,0	[78,0-95,0]	84,0	[74,0-92,0]
	global	79,0	[69,0-89,0]	73,0	[62,0-83,0]
Camargue	Bovigam ND	98,2	[97,9-98,5]	60,9	[53,8-68,0]

* Compte tenu de la faiblesse des effectifs et pour éviter les problèmes statistiques de dépendance, il a été procédé à un tirage au sort d'un animal par troupeau indemne.

(cf. Annexe F : en Côte-d'Or : cf. tableau 26 ; en Dordogne : [cf. tableaux 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51]).

La spécificité de l'IFN γ dans les études conduites en Côte-d'Or et Dordogne (mais pas en Camargue) est par nature sous-estimée, puisqu'elles sont réalisées dans des troupeaux très probablement indemnes mais dans lesquels au moins une ID non négative a été identifiée. Les résultats obtenus ne sont pas comparables à ceux obtenus dans d'autres contextes.

Certaines études ont suggéré que la production d'IFN γ pouvait être augmentée par l'administration de tuberculine au pli sous-caudal 7 à 59 jours auparavant (Rothel *et al.*, 1992), mais ce phénomène n'a pas pu être mis en évidence dans d'autres études (Doherty *et al.*, 1995 ; Ryan *et al.*, 2000 ; Gormley *et al.*, 2004). Il est donc possible d'admettre que la baisse de spécificité corrélative à cette augmentation artificielle de sensibilité du test IFN γ , est négligeable.

La spécificité individuelle des antigènes recombinants (IFN γ Rec [ESAT6]) en Côte-d'Or est supérieure à celle des PPD (IFN γ BovigamND). Ce point n'est cependant pas mis en évidence en Dordogne ce qui illustre la différence de situation de terrain entre ces deux départements (beaucoup de résultats faux positifs suite à une première ID en Côte-d'Or par rapport à la Dordogne).

- Avantages et inconvénients du test IFN γ

Les observations de terrain montrent qu'il n'existe pas un test IFN γ unique, mais de multiples techniques utilisables. A l'heure actuelle, seul le kit BovigamND (Prionics, Suisse) est commercialisé. Une nouvelle version du kit est en cours d'évaluation, ce qui signifie que les caractéristiques du test tel qu'il sera disponible dans quelques années seront probablement assez différentes de celles du test qui a été étudié. Le cocktail des antigènes spécifiques (ESAT-6 seul ou avec CFP-10) utilisé n'est pas identique d'un laboratoire vétérinaire à l'autre.

La méthode d'interprétation des résultats du test IFN γ à l'aide de la formule normalisée (Faye *et al.*, 2008) (formule consultable au point 2.1.4 de l'étude EPIMAI en Annexe F) et non de la densité optique brute est une spécificité française. Il faut également signaler l'existence de variations dans les seuils de positivité d'un laboratoire à l'autre et d'une année sur l'autre.

Ces particularités, ajoutées aux variations classiquement rencontrées dans les études d'évaluation de tests de diagnostic (origine et profil de la population animale étudiée, contexte épidémiologique, laboratoire dans lequel sont réalisés les tests, méthodes d'interprétation des résultats douteux et modalités des analyses statistiques conduites) engendrent une grande variation des chiffres publiés dans la littérature (De la Rua-Domenech *et al.*, 2006).

D'un point de vue pratique, l'utilisation du test IFN γ présente l'avantage de n'imposer qu'une seule contention des animaux testés et de fournir des résultats non dépendants du vétérinaire, contrairement à l'ID qui impose de contenir les animaux deux fois à 72 heures d'intervalle et dont la lecture est dépendante de l'opérateur. La réalisation du test IFN γ est relativement standardisée et ses résultats ne sont donc pas soumis à la subjectivité du vétérinaire.

Parmi les inconvénients inhérents à l'utilisation du test IFN γ , en pratique, le délai de transport des prélèvements sanguins au laboratoire ne doit pas excéder 4 à 6 heures suivant le prélèvement et les conditions de conservation de l'échantillon peuvent influencer sur le résultat du test (Rothel *et al.*, 1990 ; Waters *et al.*, 2007). Si le résultat du test est ininterprétable, il faut alors procéder à un nouveau prélèvement de sang. Or le coût de ce test s'élève à 40 à 60 euros par animal.

2.2.2 Étude des seuils de positivité optimaux pour le test IFN γ

Le second objectif de l'étude conduite en Côte-d'Or et en Camargue était de proposer un seuil de positivité pour deux antigènes disponibles (BovigamND et ESAT-6), selon le contexte dans lequel ils sont utilisés. Il apparaît, en effet, qu'il existe de grandes variations du seuil optimal selon la population considérée et les modalités d'utilisation du test. Chez l'animal, le taux basal d'IFN γ produit par les lymphocytes est susceptible de varier selon la race bovine considérée. Ainsi, les bovins de combat élevés en Camargue ont un taux d'IFN γ basal inférieur à celui des autres races bovines françaises (Schiller *et al.*, 2010). Par ailleurs, lors de la contention des animaux (et en particulier d'animaux habituellement peu manipulés et sensibles au stress, tels que les bovins camarguais), il n'est pas exclu que le déclenchement d'un pic de cortisol lié au stress modifie la réponse aux tests allergiques (Dondo *et al.*, 1996 ; Schiller *et al.*, 2010), y compris la production d'IFN γ par les lymphocytes T. Enfin, chez l'Homme, la quantité d'IFN γ produite en réponse à une stimulation par des antigènes de *M. tuberculosis* (ESAT6 et CFP10) peut varier en fonction du spoligotype de la souche responsable de l'infection (Rakotosamimanana *et al.*, 2010).

D'après l'analyse réalisée sur les données de Côte-d'Or (*cf.* annexe F), le seuil optimal pour le test BovigamND était de 0,1 (exprimé à l'aide de la formule normalisée). Ce résultat est à mettre en regard du seuil de 0,04 qui a été utilisé entre 2009 et 2012. L'utilisation d'un seuil de positivité plus bas que le seuil optimal pourrait expliquer la faible spécificité rapportée pour ce test. Le seuil optimal pour l'ESAT-6 était de 0,01. En Camargue en revanche, le seuil optimal pour le BovigamND était de 0,01.

La grande variabilité des résultats des tests IFN γ obtenus dans les laboratoires départementaux et au LNR ne permet pas de proposer, dans cet avis, des seuils de positivité applicables partout en France.

Un facteur majeur de variabilité entre départements français est la diversité des techniques IFN γ utilisées par les différents laboratoires départementaux. En effet, non seulement la phase de stimulation est différente (différence de réactifs utilisés pour le test BovigamND : PPD CSL ou PPD Lelystad

(laboratoire CDI), différence de réactifs utilisés pour le test avec antigènes recombinants : ESAT-6 seul ou en association avec CFP10, différence de technique : stimulation en microplaque ou en macroplaque) mais les appareillages dédiés à l'ELISA et les pratiques habituelles des techniciens sont également variables d'un département à l'autre. Des résultats plus homogènes et ainsi plus comparables auraient pu être obtenus si l'étape ELISA avait été pratiquée dans un même laboratoire.

Il faut signaler également le cas très particulier de la Camargue, où les animaux de combat (animaux de race particulière soumis à un stress très important lors de leur manipulation) fournissent des réponses au test BovigamND à un seuil qui n'est pas comparable à celui qui pourrait être utilisé dans une autre région française. Les seuils de positivité pour la Camargue, devraient donc être établis indépendamment de ceux à utiliser pour les autres zones d'élevage français.

Cependant, grâce à des améliorations apportées lors de la dernière année par le fabricant du kit BovigamND, ce test présente actuellement une sensibilité et une reproductibilité meilleures que par le passé. Par ailleurs, une version commerciale du test IFN γ Rec utilisant les antigènes recombinants et associant ESAT-6 et CFP10 sera bientôt disponible et permettra une utilisation standardisée de ces antigènes par tous les laboratoires.

Enfin, un travail de standardisation de la méthode avec les LVD (laboratoires vétérinaires départementaux), coordonné par le LNR, a débuté récemment. Son but est la concertation pour l'utilisation d'une même méthode de stimulation, l'utilisation exclusive de lots des kits contrôlés par le LNR, la constitution et l'utilisation d'un matériel de référence, la définition des formules d'interprétation et l'expression des résultats à partir des seuils optimaux permettant une interprétation simplifiée des résultats. Ces améliorations seront introduites lors des prochaines campagnes de prophylaxie.

Afin de limiter la variabilité des résultats inter-laboratoires, la centralisation de la réalisation des ELISA dans un seul laboratoire comme le LNR constituerait l'étape la plus poussée de la standardisation de la méthode.

Compte tenu :

- **de la variabilité des résultats obtenus et expertisés à ce jour,**
- **des améliorations actuelles des tests IFN γ et de leurs réactifs,**
- **des démarches de standardisation en cours dans les laboratoires et coordonnées par le LNR,**

il n'est ni souhaitable ni possible de proposer dans cet avis un/ou plusieurs seuils de positivité des tests à utiliser dans les mois à venir sur le terrain. Ce travail devrait être réalisé par le LNR et actualisé au fur et à mesure de l'évolution des réactifs.

2.2.3 Estimation des caractéristiques des tests par une approche bayésienne

Comme expliqué précédemment, les estimations directes de la caractéristique de sensibilité des tests réalisées dans la première partie de l'étude pour la Côte-d'Or et la Dordogne portaient sur un très petit nombre d'individus, provenant d'une population infectée particulière.

Afin d'évaluer les sensibilités des tests et leurs covariances²⁷ dans un échantillon représentatif de la population dans laquelle le test IFN γ est utilisé sur le terrain (troupeaux ayant obtenu des résultats non négatifs en ID, troupeaux en abattage partiel et troupeaux sous suivi renforcé), une approche bayésienne par un modèle à classe latente incluant des priors informatifs a été utilisée. Ces estimations ont été effectuées à partir d'un nombre important d'animaux dont le statut infectieux individuel n'était pas connu mais pour lesquels les résultats croisés aux trois tests étaient disponibles.

L'IFN γ et les ID étant fondés en grande partie sur le même principe biologique, le modèle choisi autorisait l'existence d'une dépendance conditionnelle entre les tests (Enøe *et al.*, 2000).

Les résultats fournis selon cette approche indiquent que la sensibilité du test IFN γ global estimée en Côte-d'Or n'était pas significativement différente de celle estimée en Dordogne ($p > 0,05$) (cf. tableau 12 ci-dessous).

²⁷ la **covariance** permet de qualifier l'indépendance entre deux variables.

Tableau 12 : Estimation des sensibilités individuelles de l'IDS, de l'IDC et de l'IFN γ par une approche bayésienne dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne

		Sensibilité moyenne	Bornes de l'intervalle de crédibilité à 95%
Côte-d'Or	IDC	0,805	[0,484-0,985]
	IDS	0,845	[0,602-0,982]
	IFN γ	0,916	[0,802-0,983]
Dordogne	IDS	0,933	[0,836-0,987]
	IFN γ	0,841	[0,589-0,982]

(cf. Annexe F, tableaux 60 et 62).

Les résultats moyens de covariance des sensibilités suggéraient l'existence d'une relation de dépendance faible entre les tests, mais ne permettaient pas d'exclure l'absence de dépendance (inclusion de la valeur 0 dans les intervalles de crédibilité à 95%). La spécificité du test IFN γ était proche de celle estimée par la méthode directe. Les spécificités des IDs n'ont pas été interprétées en raison du fait qu'elles étaient calculées dans une population d'animaux pour lesquels des résultats individuels étaient disponibles, c'est-à-dire des animaux ayant présenté des résultats non négatifs en ID (à l'exception d'un nombre restreint d'animaux provenant de troupeaux en abattage partiel en Côte-d'Or ou en suivi renforcé en Dordogne). Elles n'avaient donc pas de signification épidémiologique.

Deux études récentes ayant pour objet l'estimation des caractéristiques des ID et du test IFN γ par une approche bayésienne ont été publiées par des équipes de recherche espagnole (Alvarez *et al.*, 2012) et irlandaise (Clegg *et al.*, 2011). Le test IFN γ étudié était le BovigamND, et le seuil de positivité (exprimé en D.O. brute) rapporté était respectivement de 0,05 et 0,1. La sensibilité du test IFN γ dans les deux départements français était similaire à celle estimée en Espagne, mais supérieure à celle estimée en Irlande. La spécificité de l'IFN γ en France était inférieure à celle estimée en Irlande et en Espagne. Ces observations peuvent être expliquées par la nature du test (utilisation du BovigamND seul en Irlande et en Espagne, *versus* utilisation du BovigamND et de recombinants en Dordogne et en Côte-d'Or) et par ses modalités d'utilisation.

En Espagne et en Irlande, le test IFN γ est utilisé « en parallèle » à l'ID, afin d'augmenter la sensibilité du dépistage et d'accélérer l'éradication de la tuberculose bovine dans les foyers. Dans ces deux pays, comme en Côte-d'Or (troupeau en abattage partiel ou résultat positif en ID dans un troupeau suspect, conduisant directement à l'abattage diagnostique de l'animal concerné) les animaux « meilleurs répondants » en ID sont, en conséquence, éliminés immédiatement sans subir de test IFN γ , quel que soit le contexte du test et ne sont donc pas représentés dans l'échantillon étudié. Il est ainsi probable que la sensibilité du test IFN γ soit sous-estimée.

Les résultats de spécificité du test IFN γ obtenus par approche bayésienne n'étaient pas significativement différents des résultats obtenus par approche directe. Les estimations *a posteriori* des spécificités des ID n'ont pas été interprétées en raison du fait que les animaux inclus dans l'échantillon provenaient tous de troupeaux dans lesquels des réactions non négatives en ID avaient été mises en évidence.

2.2.4 Comparaison du risque d'erreur par défaut engendré par l'application des protocoles « en série », associant ID puis IFN γ , au risque d'erreur par défaut engendré par l'application de la directive européenne CE/64/432

Un des objectifs de l'étude conduite dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne était de comparer le risque de ne pas détecter l'infection chez un bovin tuberculeux en appliquant des protocoles associant l'ID et test IFN γ « en série », au risque encouru en appliquant le protocole prévu par la réglementation européenne qui associe l'IDS et l'IDC « en série ».

Les sensibilités des associations « en série » des trois paires de tests ont été estimées à partir des résultats de sensibilité et de covariance des sensibilités obtenus par approche bayésienne. Les calculs ont été effectués en tenant compte de l'existence éventuelle d'une relation de dépendance entre les tests (Gardner *et al.*, 2000).

Les risques d'erreur par défaut engendrés par les protocoles utilisés en Côte-d'Or et en Dordogne (respectivement IDC puis IFN γ et IDS puis IFN γ) ont été trouvés proches du risque d'erreur par défaut lié à l'application de la réglementation européenne (cf. tableau 13 ci-dessous). Cette étude n'a pas mis en évidence un excès de risque lié à l'utilisation des protocoles expérimentaux mis en œuvre en Dordogne et en Côte-d'Or, ni donc à la commercialisation dans l'Union Européenne de bovins soumis à un dépistage associant l'ID et le test IFN γ « en série ».

Tableau 13 : Sensibilités et risques d'erreur par défaut comparées des schémas décisionnels étudiés dans les départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne

	Protocole	Sensibilité (%)	Risque d'erreur par défaut (%)
UE	IDS puis IDC	70,4 [24,3 ; 100]	29,6 [0 ; 76,8]
Côte-d'Or	IDC puis IFN γ	75,6 [36,2 ; 100]	24,4 [0 ; 63,8]
Dordogne	IDS puis IFN γ	72,2 [53,6 ; 100]	27,8 [0 ; 46,4]

(cf. Annexe F, tableau 61).

Étant donné les conditions très particulières d'étude du test IFN γ , il faut, de plus, souligner que, l'estimation réalisée considère l'usage de l'ID et du test IFN γ « en série ». Or, en Côte-d'Or, les bovins ayant obtenu un résultat d'IDC positif sont systématiquement abattus. Seuls les bovins ayant obtenu un résultat d'IDC douteux sont soumis au test IFN γ . Le risque d'erreur par défaut engendré par le protocole de Côte-d'Or tel qu'il est appliqué sur le terrain est donc inférieur au risque d'erreur par défaut calculé dans cette étude.

2.2.5 Discussion des résultats d'analyse des arbres décisionnels

Le principe de l'évaluation du devenir des élevages « suspects » (dernière partie de l'étude présentée en Annexe F) était de comparer le risque de survenue de foyers de tuberculose au cours de l'année (voire des deux années suivantes) dans la population dont la qualification indemne avait été maintenue après un résultat non négatif à la tuberculination de contrôle grâce à l'utilisation des arbres décisionnels (utilisant le test IFN γ pour les élevages dans lesquels des réactions non négatives au contrôle par tuberculination (IDS ou IDC) avaient été constatées), par rapport à une population de référence constituée par les élevages du même département ayant fourni un résultat négatif à cette même tuberculination.

L'examen des différents tableaux présentant les résultats de l'utilisation des arbres décisionnels révèle une majorité d'écarts non significatifs (cf. annexe F). Quelques écarts significatifs sont associés à des valeurs relativement élevées de rapport de risque, mais ces observations ne sont pas constantes, que ce soit d'une année sur l'autre, ou en fonction de la zone (zone à risque ou à plus faible risque). Enfin, certaines valeurs élevées de risque relatif sont associées à des écarts non significatifs, ce qui pourrait suggérer un manque de puissance compte tenu de la taille faible des effectifs.

Il faut toutefois tenir compte du respect des conditions de validité (statistiques, épidémiologiques) avant de pouvoir accepter, ou non, le sens suggéré par les données.

Du point de vue statistique

Le manque de puissance résulte de la faiblesse des effectifs des élevages reconnus infectés de tuberculose après le maintien de leur qualification indemne : bien souvent, l'échantillon étudié ne comporte qu'un seul individu au numérateur, ce qui fragilise considérablement la qualité de l'interprétation, cela quels que soient les regroupements effectués pour corriger ce défaut.

Par ailleurs, le recours à un test statistique suppose l'indépendance des données ; or, ce critère n'est pas spontanément satisfait sur le terrain. Les élevages sont en effet dépendants entre eux, tout d'abord par le fait qu'un même vétérinaire procède aux tuberculinations d'un certain nombre d'élevages : sa pratique de tuberculination, de lecture, d'interprétation peut être différente de celle d'un autre vétérinaire, et peut retentir sur la fiabilité des données utilisées pour les calculs. Ensuite, les élevages sont reliés localement par un ensemble de réseaux de relations pouvant aussi bien assurer la propagation d'une infection contagieuse, comme la tuberculose, que la communauté d'exposition à une mycobactérie de l'environnement responsable de réactions non spécifiques. Le

taux élevé de réactions non négatives en Côte-d'Or montre bien la réalité de ce risque dans ce département.

Du point de vue épidémiologique

Le principe de l'évaluation reposant sur la comparaison entre deux sous-populations suppose qu'elles soient comparables, c'est-à-dire que l'on puisse conclure que l'écart éventuellement constaté est bien imputable au facteur étudié (le recours à l'arbre décisionnel) et non à des différences tenant à la constitution démographique de ces sous-populations.

Cette comparabilité peut être garantie *a priori* lors de la constitution des échantillons, et/ou *a posteriori*, par des procédures d'ajustement statistique appropriées. S'agissant d'une étude portant sur une population complète et non sur des échantillons constitués pour les besoins de cette étude, la comparabilité ne peut pas être garantie. L'objectif est donc ici strictement descriptif, car il n'était pas possible de constituer des échantillons permettant de satisfaire à ces conditions de comparabilité.

Interprétation finale

Du fait des conditions méthodologiques précédemment énoncées, les résultats produits dans cette étude ne peuvent donc pas être utilisés pour conclure avec suffisamment de certitude.

Cependant, il n'a pas été possible de mettre en évidence un risque d'infection plus élevé du fait de l'utilisation de ces arbres décisionnels et donc du recours au test IFN γ utilisé « en série » (sans recours systématique ultérieur à l'IDC) (sortie 2), même dans la zone la plus à risque.

Enfin, la très petite taille des effectifs, si elle constitue une faiblesse méthodologique au plan statistique, permet, à l'inverse, de souligner que le risque de l'utilisation de ces procédures de maintien de la qualification, demeure particulièrement faible à l'échelle de la population.

3. Conclusions du Comité d'experts spécialisé « Santé animale »

3.1 Choix des tests IFN γ : réponse à la question 1

Rappel de la question : « Quelles sont les caractéristiques intrinsèques des tests IFN γ (global/ BovigamND / Recombinant) actuellement utilisés en France ? »

L'analyse bibliographique, de même que l'étude épidémiologique réalisée (en Côte-d'Or, cf. Annexe F) mettent en évidence que l'usage des antigènes recombinants ESAT-6 et CFP-10 améliore la spécificité du test IFN γ .

En ce qui concerne la sensibilité (individuelle) : les données de l'étude suggèrent que le test IFN γ utilisant des recombinants (ESAT-6 notamment) serait plus sensible que le test IFN γ utilisant des PPD (BovigamND). La bibliographie n'est pas toujours en concordance avec cette observation ; ces divergences pourraient être liées en partie à l'origine de la PPD, celle produite par le CDI Lelystad ayant des capacités de stimulation antigénique supérieures à celles de la PPD produite par CSL Australia, et qui a été utilisée en Côte-d'Or et en Dordogne.

Il paraît donc judicieux dans le contexte des départements de la Côte-d'Or et de la Dordogne de préconiser en complément du test IFN γ BovigamND l'utilisation du test IFN γ basé sur les antigènes définis ESAT-6 et CFP-10, disponibles notamment sous forme recombinante.

3.2 Seuil de positivité du test IFN γ utilisé « en série » : réponse à la question 2

Rappel de la question : « Quels sont les tests IFN γ et leurs seuils de positivité qui devraient être recommandés dans les départements où persiste la tuberculose en France ? »

Compte tenu :

- de la variabilité des résultats obtenus et expertisés à ce jour,
- des améliorations actuelles des tests IFN γ et de leurs réactifs,
- des démarches de standardisation en cours dans les laboratoires et coordonnées par le LNR,

il n'est ni souhaitable ni possible de proposer dans cet avis un ou plusieurs seuils de positivité des tests à utiliser dans les mois à venir sur le terrain. Ce travail devrait être réalisé par le LNR et actualisé au fur et à mesure de l'évolution des réactifs.

Toutefois, le choix du seuil de positivité du test IFN γ doit être fait en tenant compte des objectifs de la stratégie décisionnelle mise en place. Une sensibilité élevée doit être privilégiée en zone infectée tandis qu'une spécificité élevée est indispensable en zone indemne.

Le fait d'utiliser un schéma décisionnel « en série » que ce soit ID puis IDC (réglementation européenne) ou ID puis IFN γ (arbre décisionnel de Côte-d'Or et de Dordogne) a pour but d'améliorer la spécificité du dépistage.

D'un autre côté, toutes les études bibliographiques montrent une sensibilité légèrement meilleure pour l'IFN γ que pour les ID, mais la sensibilité du dépistage « en série » (ID- IFN γ) étant estimée équivalente à celle du dépistage « en série » IDS-IDC recommandé par la réglementation européenne (cf. supra), il paraît souhaitable de choisir un seuil de positivité respectant un équilibre entre sensibilité et spécificité. En effet, dans la mesure où le dépistage « en série » privilégie la spécificité, il ne paraîtrait pas opportun d'améliorer encore celle-ci par le choix du seuil au détriment de la sensibilité globale du dispositif de dépistage « en série ».

3.3 Risque-bénéfice de l'utilisation du test IFN γ « en série » (évaluation des protocoles décisionnels) : réponse à la question 3

Rappel de la question : « Dans le cadre du dépistage de la tuberculose bovine en France, quelle est l'importance du risque lié à l'utilisation « en série » du test IFN γ (après une ID) par rapport au risque lié à l'utilisation de deux ID « en série » (tel que préconisé par la réglementation européenne ? »

Les arbres décisionnels ont été utilisés en Côte-d'Or et en Dordogne dans des contextes épidémiologiques très différents ; notamment la présence de nombreuses réactions non spécifiques (cf. Annexe G) et l'existence de cheptels de taille importante ont conduit les gestionnaires locaux à utiliser l'IDC en première intention en Côte-d'Or, alors qu'en Dordogne, l'IDS reste le test de dépistage initial.

Dans les deux départements, le test IFN γ a été utilisé « en série » après un premier test ID dont le résultat était non négatif²⁸, à la place de l'IDC préconisée par la réglementation européenne. L'objectif implicite de l'utilisation de ce test était de limiter le temps de blocage des exploitations lorsqu'il était supposé que le résultat obtenu à la suite de l'ID correspondait à une réaction faussement positive. Il est à signaler que la réalisation d'une prise de sang pour le test IFN γ , le jour de la lecture de l'ID n'a pas été signalée dans la bibliographie comme influençant de manière déterminante le résultat de ce test de laboratoire. Par ailleurs, compte tenu des résultats des tests observés depuis plusieurs années en pratique, il ne semble pas non plus que la réalisation d'une prise de sang le jour de la lecture de l'ID soit à l'origine d'une diminution de la sensibilité de l'IFN γ .

L'analyse conduite à l'échelle individuelle (cf. Annexe F) n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative entre le risque d'erreur de détection par défaut lié à cette utilisation du test IFN γ « en série » (après une ID dont le résultat était douteux) et le protocole européen utilisant deux ID « en série » (IDC 6 semaines après un résultat non négatif en IDS). Il est donc peu probable qu'il

²⁸ Les résultats non négatifs correspondent à :

- tous les résultats douteux ET positifs en Dordogne ;
- tous les résultats douteux en Côte-d'Or, les animaux présentant un résultat positif faisant l'objet d'un abattage diagnostique.

existe une différence entre ces deux protocoles en termes de risque de maintenir ou restituer à tort une qualification.

Par ailleurs, l'analyse des arbres décisionnels utilisés jusqu'en 2011, conduite tant en Côte-d'Or qu'en Dordogne, ne permet pas, non plus, de mettre en évidence de différence significative en termes de « risque accru d'infection ultérieure » entre les protocoles réglementaires européens et les protocoles utilisant le test IFN γ « en série » pour restituer leur qualification à des troupeaux dans lesquels des résultats non négatifs²⁴ avaient été mis en évidence. Le faible nombre de troupeaux concernés (c'est-à-dire diagnostiqués infectés un ou deux ans après une restitution de qualification) s'il conduit à un manque de puissance nuisant à l'analyse statistique, est également un point à prendre en considération dans une évaluation de risque.

Enfin, l'étude bibliographique ainsi que l'analyse réalisée sur les données de la Côte-d'Or et de la Dordogne mettent en évidence une sensibilité au moins équivalente, et souvent meilleure, du test IFN γ par rapport à l'IDC. Cette sensibilité meilleure du test IFN γ est sans doute à moduler par le fait que l'emploi de l'IDC après un délai de six semaines d'attente (réglementation européenne) est susceptible d'améliorer la détectabilité des élevages infectés qui sont en début d'infection évolutive.

Pour toutes ces raisons, et malgré l'absence de preuves scientifiques indiscutables, le CES SANT a considéré que les données disponibles ne permettaient pas de montrer que le protocole d'utilisation « en série » des tests ID puis IFN γ présentait une sensibilité inférieure à celle du protocole préconisé par la réglementation européenne (IDC six semaines après un résultat non négatif à l'IDS).

De plus, le groupe d'experts a pris en considération les éléments suivants sur l'usage de l'IFN γ :

- Le test IFN γ présente une meilleure acceptabilité : d'un point de vue pratique, l'utilisation de ce test présente l'avantage de n'imposer qu'une seule contention des animaux testés. Une prise de sang réalisée le jour de la lecture d'une réaction douteuse à une ID permet, en cas de réponse négative au test IFN γ , une durée de blocage de l'exploitation beaucoup plus faible (quelques jours *versus* un minimum de six semaines). Cet avantage n'est pas contrebalancé par une interférence négative (baisse de la sensibilité du deuxième test) entre la réaction intradermique et la réponse à l'IFN γ (Rothel *et al.*, 1992, Doherty *et al.*, 1995, Ryan *et al.*, 2000 Gormley *et al.*, 2004).
- Le test IFN γ permet une meilleure standardisation que les tests intradermiques : même si des différences de réalisation sont possibles entre les laboratoires, la variabilité est nettement moindre que celle observée sur le terrain lors de la mise en œuvre d'un test intradermique (variabilité entre opérateurs : « effet clientèle » et, pour un même opérateur, variabilité entre les animaux : « effet animal »).

Au bilan : le risque estimé lors de l'utilisation du test IFN γ « en série » pour restituer une qualification dans les cheptels où des réactions non négatives en ID ont été observées, apparaît équivalent à celui généré par l'application du protocole préconisé par la réglementation européenne. En revanche, l'utilisation du test IFN γ présente certains avantages en termes d'acceptabilité et de standardisation. »

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Anses endosse les conclusions du CES Santé animale dans leur ensemble, tout en réitérant la nécessité, déjà indiquée par les experts, de considérer ces conclusions avec prudence compte tenu du faible nombre de jeux de données complets qui étaient disponibles pour l'analyse.

A cet égard, un rapport d'appui scientifique et technique (AST) de l'Afssa (2007-SA-0351 « AST en vue de l'évaluation d'un protocole interféron gamma mis en œuvre en Dordogne ») soulignait dès 2008 l'importance de collecter des données afin d'être en mesure d'évaluer les performances du test IFN γ mis en place à titre expérimental. Il soulignait notamment l'intérêt d'une étude « a posteriori sur plusieurs années permettant d'identifier le taux réel de requalifications excessives permises par le protocole ». Il conviendrait d'examiner en détail les raisons du déficit actuel de données et d'y remédier à l'avenir. L'établissement d'un arbre décisionnel unique et de protocoles standardisés pour la réalisation des tests IFN γ seraient également essentiels pour la constitution de bases de données de qualité.

Dans ces conditions (faible nombre de données), les estimations de sensibilité et de spécificité des tests doivent être relativisées, notamment celles qui sont réalisées dans un cadre fréquentiste (l'examen bactériologique étant le test de référence). Par ailleurs, les caractéristiques des tests estimées dans le cadre de cette étude ne peuvent être strictement comparées aux données issues de la littérature en raison de l'utilisation particulière de ces tests dans les départements étudiés. Cette utilisation réalise un biais de sélection des animaux testés, et ce biais n'étant pas identique en Côte d'Or (où les animaux positifs à l'IDC n'étaient pas testés en IFN γ) et en Dordogne (où tous les animaux non-négatifs étaient testés), toute comparaison des caractéristiques des tests entre départements est également à proscrire.

L'estimation de la spécificité des tests soulève en outre un problème de définition des populations indemnes de référence, sachant que les zones considérées ne sont elles-mêmes pas indemnes (au sens épidémiologique), mais que par ailleurs, une population de référence qui serait prise dans une région française véritablement indemne, ne présenterait pas les mêmes caractéristiques que celles des régions étudiées, notamment au regard des facteurs responsables de réactions non spécifiques aux tests. A cet égard, l'Anses remarque que l'utilisation en série des tests de diagnostic (ID suivie du test IFN γ) repose, du moins pour la Côte d'Or, sur l'existence de réactions non spécifiques aux tuberculinations, dont l'importance et l'origine sont insuffisamment documentées. L'Agence recommande que soient précisés et étayés par des publications scientifiques, le nombre et les causes de ces réactions non-spécifiques, qui ont justifié en grande partie la mise en œuvre de protocoles particuliers.

Malgré les limites de l'estimation des performances de chaque test, dans le contexte Côte d'Or et Dordogne, et les réserves qui doivent l'accompagner, il convient de remarquer que les caractéristiques déterminées par l'étude EpiMai, notamment celles issues de l'analyse bayésienne, ne s'écartent pas notablement des caractéristiques rapportées dans la littérature, qui s'inscrivent elles-mêmes dans des fourchettes très larges liées à la diversité des modalités et contextes d'utilisation des tests dans les différents pays.

L'usage en série des tests dans les contextes français a répondu au souci d'augmenter la spécificité du dépistage de la tuberculose, sans en réduire la sensibilité. L'analyse bayésienne conduite dans le cadre de cette saisine tend à indiquer des sensibilités comparables pour la procédure de diagnostic combinant les deux tests en série et pour la procédure européenne, mais avec des intervalles de crédibilité très larges. La deuxième approche, qui s'est attachée à examiner le nombre de cheptels dont la qualification a été maintenue à tort par l'application des arbres décisionnels français, n'a pas eu non plus une puissance statistique permettant de conclure. « Malgré l'absence de preuves scientifiques indiscutables, le CES SANT a considéré que les données disponibles ne permettaient pas de montrer que le protocole d'utilisation en série des tests ID puis IFN γ présentait une sensibilité inférieure à celle du protocole préconisé par la réglementation européenne (IDC six semaines après un résultat non négatif à l'IDS). » L'Anses constate ce résultat et considère avec les experts que, si

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

les protocoles utilisés en Dordogne et Côte d'Or avaient entraîné un sur-risque majeur par rapport à la stricte application de la directive européenne, ce résultat aurait probablement émergé de l'analyse des données. Cependant l'Agence remarque que les données disponibles n'ont pas non plus permis de démontrer que les protocoles utilisés présentaient une sensibilité au moins équivalente à celle du protocole préconisé par la réglementation européenne. Par conséquent, la conclusion du CES SANT selon laquelle « le risque estimé lors de l'utilisation du test IFNy en série pour restituer une qualification dans les cheptels où des réactions non négatives en ID ont été observées, apparaît équivalent à celui généré par l'application du protocole préconisé par la réglementation européenne », mériterait, selon d'Anses, d'être consolidée sur la base de l'acquisition et de l'analyse de nouvelles données. Celles-ci devraient s'inscrire dans le cadre d'une stratégie définie en amont, visant à répondre précisément aux questions qui restent en suspens sur les performances des tests et la surveillance de la tuberculose bovine en France.

Le directeur général

Marc Mortureux

MOTS-CLES

Tuberculose bovine, dépistage, test interféron gamma, IFN γ , en série, PPD, antigènes re-combinants, ESAT-6, CFP-10, sensibilité, spécificité, seuil de positivité.

BIBLIOGRAPHIE

- Aagaard C., Govaerts M., Meikle V., Gutiérrez-Pabello J.A., McNair J., Andersen P., Suárez-Güemes F., Pollock J., Espitia C., Cataldi A. *Detection of bovine tuberculosis in herds with different disease prevalence and influence of paratuberculosis infection on PPDB and ESAT-6/CFP10 specificity*. *Prev Vet Med*, 2010. **96**(3-4): p. 161-9.
- Alvarez-Uria G., Midde M., Pakam R., Kannan S., Bachu L., Naik P.K. *Evaluation of the sensitivity and specificity of bovine tuberculosis diagnostic tests in naturally infected cattle herds using a Bayesian approach*. *Vet Microbiol*, 2012. **155**(1): p. 38-43.
- Anses, *Spécial MRC*. BE, 2010. (40): p. 3-8.
- Antognoli M.C., Remmenga M.D., Bengtson S.D., Clark H.J., Orloski K.A., Gustafson L.L., Scott A.E. *Analysis of the diagnostic accuracy of the gamma interferon assay for detection of bovine tuberculosis in U.S. herds*. *Prev Vet Med*, 2011. **101**(1-2): p. 35-41.
- Branscum A.J., Gardner I.A., Johnson W.O. *Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling*. *Prev Vet Med*, 2005. **68**(2-4): p.145-163.
- Brooks-Pollock E. et Keeling M. *Herd size and bovine tuberculosis persistence in cattle farms in Great Britain*. *Prev Vet Med*, 2009. **92**(4): p.360–365.
- Buddle B.M., Ryan T.J., Pollock J.M., Andersen P., De Lisle G.W. *Use of ESAT-6 in the interferon-gamma test for diagnosis of bovine tuberculosis following skin testing*. *Vet Microbiol*, 2001. **80**(1): p. 37-46.
- Cagiola M., Feliziani F., Severi G., Pasquali P., Rutili D. *Analysis of possible factors affecting the specificity of the gamma interferon test in tuberculosis-free cattle herds*. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004. **11**(5): p. 952-6.
- Clegg T.A., Duignan A., Whelan C., Gormley E., Good M., Clarke J., Toft N., More S.J. *Using latent class analysis to estimate the test characteristics of the gamma-interferon test, the single intradermal comparative tuberculin test and a multiplex immunoassay under Irish conditions*. *Vet Microbiol*, 2011. **151**(1-2): p. 68-76.
- Coad M., Downs S.H., Durr P.A., Clifton-Hadley R.S., Hewinson R.G., Vordermeier H.M., Whelan A.O. *Blood-based assays to detect Mycobacterium bovis-infected cattle missed by tuberculin skin testing*. *Vet Rec*, 2008. **162**(12): p. 382-4.
- Coad M., Hewinson R.G., Clifford D., Vordermeier H.M., Whelan A.O. *Influence of skin testing and blood storage on interferon-gamma production in cattle affected naturally with Mycobacterium bovis*. *Vet Rec*, 2007. **160**(19): p. 660-2.
- Corner L.A. et Pearson CW. *Response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria isolated from soil*. *Austr Vet J*, 1979. **55**: p. 6-9.
- Dean G.S., Rhodes S.G., Coad M., Whelan A.O., Cockle P.J., Clifford D.J., Hewinson R.G., Vordermeier H.M. *Minimum infective dose of Mycobacterium bovis in cattle*. *Infect Immun*, 2005. **73**(10): p. 6467-6471.
- Defra. *A Review of the GB Gamma Interferon testing policy for tuberculosis in cattle*. 2009. <http://archive.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/diseases/atoz/tb/documents/gamma-review090710.pdf>.
- De la Rua-Domenech R., Goodchild A.T., Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Christiansen K.H., Clifton-Hadley R.S. *Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques*. *Res Vet Sci*, 2006. **81**(2): p. 190-210.

- Dendukuri N. et Joseph L. *Bayesian approaches to modelling the conditional dependence between multiple diagnostic tests*. Biometrics, 2001. **57**(1): p.158-167.
- Doherty M.L., Monaghan M.L., Bassett H.F., Quinn P.J. *Effect of a recent injection of purified protein derivative on diagnostic tests for tuberculosis in cattle infected with Mycobacterium bovis* Res Vet Sci, 1995. **58** (3): p. 217-221.
- Dondo A., Gorla M., Abete M.C., Giammarino M., Allasia G., Nicolandi L. *Effect of dexamethasone on gamma interferon test in cattle infected with M. bovis*. In: Proceedings Società Italiana delle Scienze Veterinarie, vol. L. Perugia, 1996. p. 25-28.
- Downs S., Parry J., Nunez-Garcia J., Abernethy D., Broughan J., Cameron A., Cook A., De la Rua-Domenech R., Goodchild A., Greiner M., Gunn J., More S., Rhodes S., Rolfe S., Sharp M., Upton P., Vordermeier H., Watson E., Welsh M., Whelan A., Woolliams J., Clifton-Hadley R. *Meta-analysis of diagnostic test performance and modelling of testing strategies for control of bovine tuberculosis in GB*. In: Fourichon C (ed); Pfeiffer DU (ed), Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine: proceedings of a meeting held in Leipzig, Germany, 23rd - 25th March 2011. p. 139-153.
- Enøe C., Georgiadis M.P., Johnson W.O. *Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease is unknown*. Prev Vet Med, 2000. **45**(1-2): p. 61-81.
- Faye S., Moyon J.-L., Gares H., Benet J.-J., Garin-Bastuji B., Boschioli M.-L. *Determination of decisional cut-off values for the optimal diagnosis of bovine tuberculosis with a modified IFN γ assay (Bovigam(R)) in a low prevalence area in France*. Vet Microbiol, 2011. **151**(1-2): p. 60-67.
- Faye S., Boschioli M.L., Moyon J.L., Benet J.J., Garin-Bastuji B., Gares H. *Study of the specificity and the sensitivity of the dosage of the interferon gamma technique to the cattle for the diagnosis of bovine tuberculosis*. Renc Rech Ruminants, 2008. 15: p. 81-84.
- Francis J., *Tuberculosis in Animals and Man : A Study in Comparative Pathology*. Cassell and Company Ltd, London, 1958.
- Gardner I.A., Stryhn H., Lind P., Collins M.T. *Conditional dependence between tests affects the diagnosis and surveillance of animal disease*. Prev Vet Med, 2000. **45**(1-2): p. 107-122.
- Georgiadis M.P., Johnson W.O., Singh R., Gardner I.A. *Correlation-adjusted estimation of sensitivity and specificity of two diagnostic tests*. J Roy Stat Soc C-App, 2003. **52**(1): p. 63-78.
- Gormley E., Doyle M.B., McGill K., Costello E., Good M., Collins J.D. *The effect of the tuberculin test and the consequences of a delay in blood culture on the sensitivity of a gamma-interferon assay for the detection of Mycobacterium bovis infection in cattle*. Vet Immunol Immunopathol, 2004. **102**(4): p. 413-420.
- Gormley E., Doyle M.B., Fitzsimons T., McGill K., Collins J.D. *Diagnosis of Mycobacterium bovis infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam®) assay*. Vet microbiol, 2006. **112**(2-4): p. 171-179.
- Lauzi S., Pasotto D., Amadori M., Archetti IL., Poli G., Bonizzi L. *Evaluation of the specificity of the gamma-interferon test in Italian bovine tuberculosis-free herds*. Vet J. 2000. **160**(1): p. 17-24.
- Lunn D.J., Thomas A., Best N., Spiegelhalter D. *WinBUGS - A Bayesian modelling framework: concepts, structure, and extensibility*. Stat Comput, 2000. **10**(4): p. 325-337.
- Marassi C.D., Medeiros L., Lilenbaum W. *The use of a Gamma-Interferon assay to confirm a diagnosis of bovine tuberculosis in Brazil*. Acta Trop, 2010. **113**(2): p. 199-201.
- Molicotti P., Bua A., Cannas S., Ruggeri M., Mura A., Zanetti S. *Preliminary data of different methods for the indirect diagnosis of Mycobacterium bovis infection*. New Microbiol, 2011. **34**(3): p. 323-5.
- Neill S.D., Cassidy J., Hanna J., Mackie D.P., Pollock McA J., Clements A., Walton E., Bryson D.G. *Detection of Mycobacterium bovis infection in skin test-negative cattle with an assay for bovine interferon-gamma*. Vet Rec, 1994. **135**(6): p. 134-135.
- Pollock J.M., McNair J., Bassett H., Cassidy J.P., Costello E., Aggerbeck H., Rosenkrands I., Andersen P. J Clin Microbiol, 2003. **41**(5): p. 1856-1860.
- Rakotosamimanana N., Raharimanga V., Andriamandimby S.F., Soares J.-L., Doherty T.M., Ratsitohina M., Ramarokoto H., Zumla A., Huggett J., Rook G., Richard V., Gicquel B., Rasolof-Razanamparany V., Fletcher H., Kim L., Chintu C., Mulundu G., Mwaba P., McAdam K.P.W.J., Owiafe P., Warndorff D., Lienhardt C., Brookes R., Hill P., Engers H., Aseffa A., Demissie A., Abebe M., Wassie L. *Variation in gamma interferon responses to different infecting strains of Mycobacte-*

rium tuberculosis in acid-fast bacillus smear-positive patients and household contacts in Antananarivo, Madagascar. Clin and Vac Immunol, 2010. **17**(7): p. 1094-1103.

Rothel J.S., Jones S.L., Corner L.A., Cox J.C., Wood P.R. *A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon-gamma and its use for the detection of tuberculosis in cattle.* Aust Vet J, 1990. **67**(4): p. 134-137.

Rothel J.S., Jones S.L., Corner L.A., Cox J.C., Wood P.R. *The gamma-interferon assay for diagnosis of bovine tuberculosis in cattle: conditions affecting the production of gamma-interferon in whole blood culture.* Aust Vet J, 1992. **69** (1): p. 1-4.

Ryan T.J., Buddle B.M., De Lisle G.W. *An evaluation of the gamma interferon test for detecting bovine tuberculosis in cattle 8 to 28 days after tuberculin skin testing.* Res Vet Sci, 2000. **69**(1): p. 57-61.

Scacchia M., Lelli R., Petrini A., Prencipe V., Calistri P., Giovannini A. *Use of innovative methods in the eradication of bovine tuberculosis.* J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 2000. **47**(5): p. 321-327.

Schiller I., Vordermeier H.M., Waters W.R., Kyburz A., Cagiola M., Whelan A., Palmer M.V., Thacker T., Meijlis J., Carter C., Gordon S., Egnuni T., Hardegger R., Marg-Haufe B., Raeber A., Oesch B. *Comparison of tuberculin activity using the interferon- γ assay for the diagnosis of bovine tuberculosis* Vet Rec, 2010. **167** (9): p. 322-326.

Schiller I., Oesch B., Vordermeier H.M., Palmer M.V., Harris B.N., Orloski K.A., Buddle B.M., Thacker T.C., Lyashchenko K.P., Waters W.R. *Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication.* Transbound Emerg Dis, 2010. **57**(4): p. 205-20.

Schiller I., Vordermeier H.M., Waters W.R., Whelan A.O., Coad M., Gormley E.d, Buddle B.M., Palmer M., Thacker T., McNair J., Welsh M., Hewinson R.G., Oesch B. *Bovine tuberculosis: effect of the tuberculin skin test on in vitro interferon gamma responses.* Vet Immunol Immunopathol, 2010. **136**(1-2) : p. 1-11.

Taconnet A. *Bilan de l'utilisation du test de dosage de l'interféron gamma dans la lutte contre la tuberculose bovine en Camargue.* Rapport de stage IESPV 1^o année, 2009. 64 p.

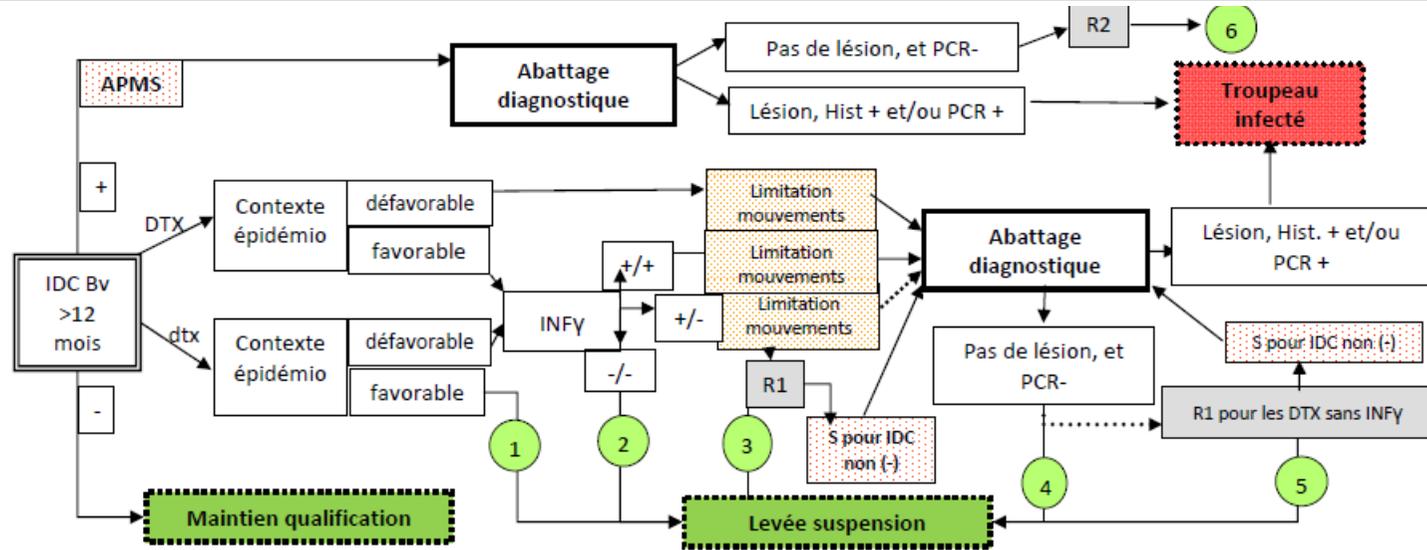
Vordermeier M., Goodchild A., Clifton-Hadley R., de la Rúa R. *The interferon-gamma field trial: background, principles and progress.* Vet Rec, 2004. **155**(2): p. 37-38.

Waters W.R., Nonnecke B.J., Olsen S.C., Palmer M.V. *Effects of pre-culture holding time and temperature on interferon- γ responses in whole blood cultures from Mycobacterium bovis-infected cattle.* Vet Microbiol, 2007. **119**(2-4): p. 277-282.

Whipple D.L., Palmer M.V., Slaughter R.E., Jones S.L. *Comparison of purified protein derivatives and effect of skin testing on results of a commercial gamma interferon assay for diagnosis of tuberculosis in cattle.* J Vet Diagn Invest, 2001. **13**(2): p. 117-22.

Wood, P.R. et S.L. Jones, *BOVIGAM: an in vitro cellular diagnostic test for bovine tuberculosis.* Tuberculosis (Edinb), 2001. **81**(1-2): p. 147-55.

ANNEXE A : ARBRE DECISIONNEL UTILISE EN COTE-D'OR JUSQU'EN 2011



IDC pos si $(B3-B0)-(A3-A0) > 4mm$.
 IDC nég si $(B3-B0)-(A3-A0) < 1mm$.
 IDC dtx si $1mm < (B3-B0)-(A3-A0) < 4mm$ et $2 > DB < 4mm$
 IDC DTX si $1mm \leq (B3-B0)-(A3-A0) \leq 4mm$ et $DB > 4mm$.

S = Suspension qualification, APMS et SIGAL

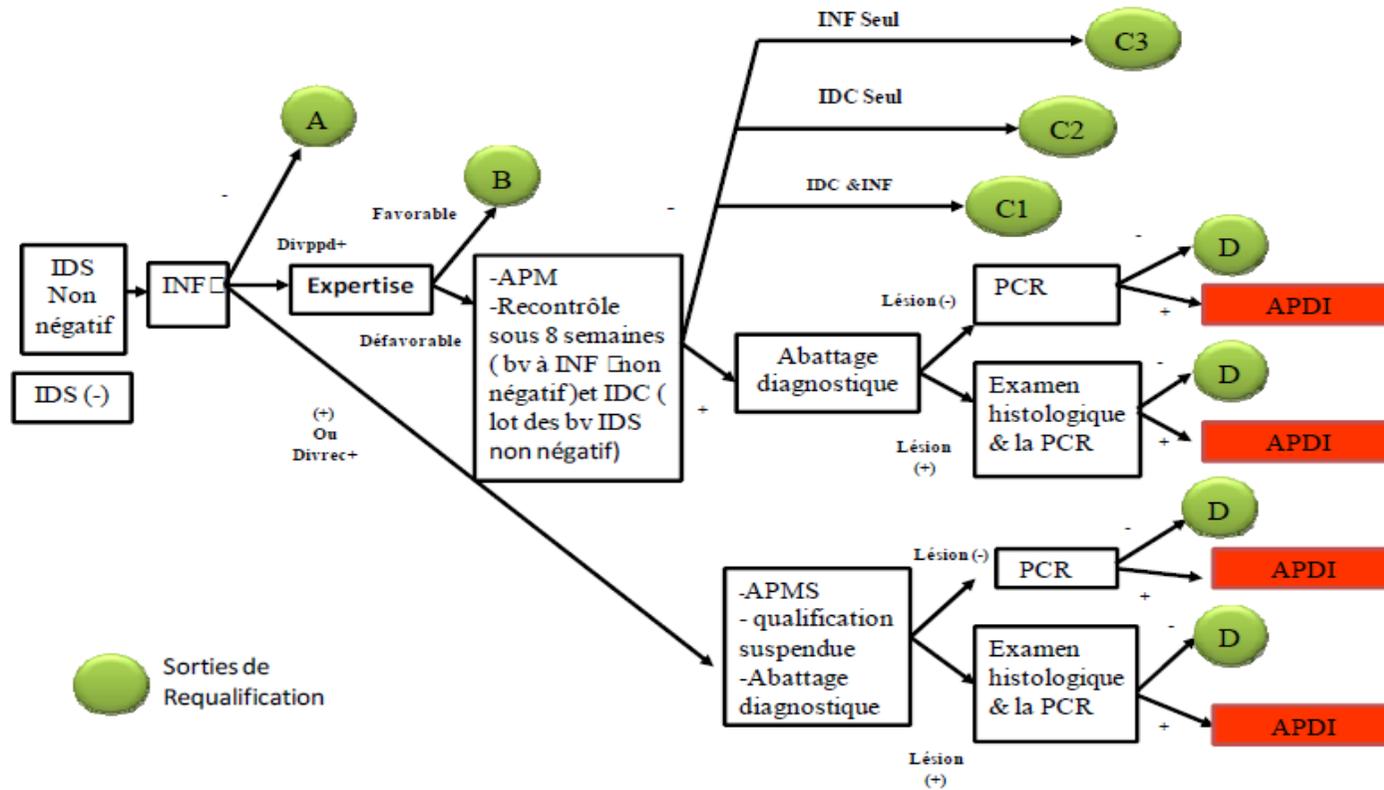
1° Sortie de requalification

R1 = Recontrôle à 2 mois de 10% des bovins > 12 mois (contacts) 15 bovins au minimum.

R2 = Recontrôle à 2 mois de tous les bovins > 6 semaines non testés et 10% des bovins > 12 mois (divergents, contacts) 15 bovins au minimum

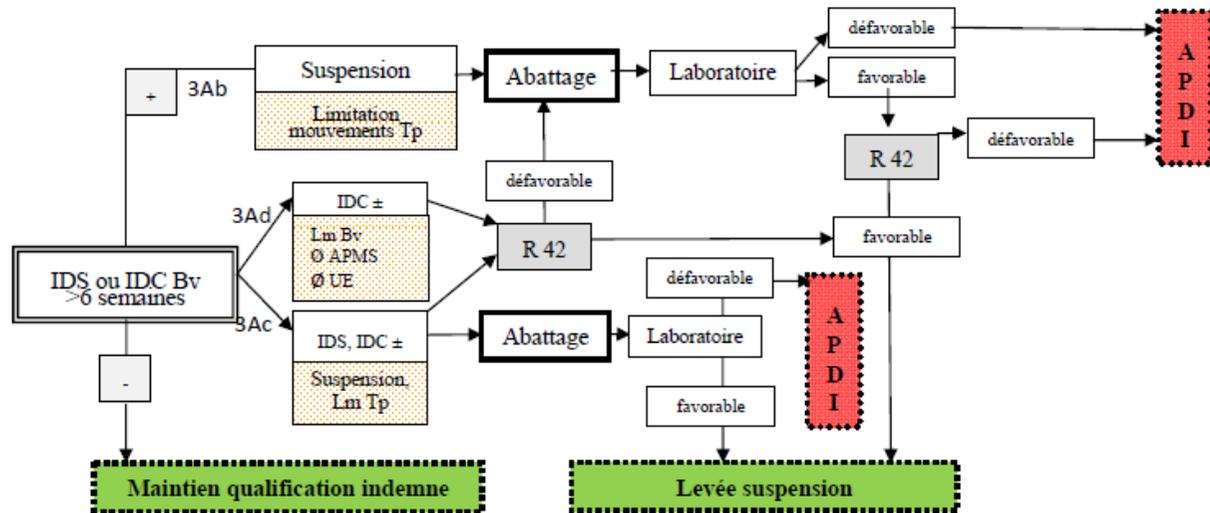
Contexte épidémiologique favorable = nouvelle zone
 Contexte épidémiologique défavorable = zone à risque (résidents et pâturants) + liens épidémiologiques + anomalies récurrentes et cheptels à problème

ANNEXE B : ARBRE DECISIONNEL UTILISE EN DORDOGNE JUSQU'EN 2011



Sortie A : INF (-)
 Sortie B : INF (divppd+) suivi d'une expertise (DDCSPP 24)¹favorable
 Sortie C1 : INF (divppd+) suivi d'une expertise défavorable et d'un recontrôle INF & IDC favorable
 Sortie C2 : INF (divppd+) suivi d'une expertise défavorable et d'un recontrôle IDC seul favorable
 Sortie C3 : INF (divppd+) suivi d'une expertise défavorable et d'un recontrôle INF seul favorable
 Sortie D : INF(+) ou IDC(+)
 1 : Direction Départementale de la Cohésion Sociale et de la Protection des Populations de la Dordogne

ANNEXE C : ARBRE DECISIONNEL CORRESPONDANT A L'APPLICATION DE LA DIRECTIVE CE/ 64/432



IDC positive si $(B3-B0)-(A3-A0) > 4\text{mm}$, $DB \geq 2\text{ mm}$.
 IDC négative si $(B3-B0)-(A3-A0) < 1\text{mm}$.
 IDC Dtx si $1\text{mm} < (B3-B0)-(A3-A0) < 4\text{mm}$.
 IDS Dtx si pli peau entre 2 et 4mm.
 IDS positive $> 4\text{ mm}$.
 IDS négative $< 2\text{ mm}$.

3Ab = Chemin selon le paragraphe 3Ab de la directive UE/64/432, annexe A

IDT = Intradermotuberculination
 IDS = Intradermotuberculination simple
 IDC = Intradermotuberculination comparative
 ± = résultat douteux à l'IDT
 Bv = bovins ; Tp = troupeau.
 APDI : Arrêté préfectoral de mise sous surveillance (Troupeau infecté)
 Ø APMS = Pas d'arrêté préfectoral de mise sous surveillance
 Lm = Limitation de mouvements
 Ø UE = pas de commerce pour UE

R 42 = Recontrôle au 42 jours au minimum de tous les bovins > 6 semaines douteux. Les bovins IDS sont recontrôlés avec un IDC où, pour obtenir la levée de la suspension, les résultats doivent être négatives après 42 jours après l'élimination du dernier animal ayant présenté un IDT(+).

Avis de l'Anses
Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

ANNEXE D : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Étude	Population d'étude	Prévalence attendue	Test(s) utilisé(s)	Seuils IFN	Type d'utilisation	Définition du statut BV infecté	Se	Sp	Concordance ID/IFN-g
Aagard <i>et al.</i> 2010 Argentine, Mexique, Irlande du Nord	775 BV de trpx ac historique de tuberculose	3 niveaux de prévalence intra-troupeau	IDS -IDC IFN γ PPD Bovigam ND (20 μ g/ml) IFN recomb (mélange ESAT6+CFP10 - 4 μ g/ml)	Résultats exprimés en ODI (Optical Density indexes) Distribution des ODI des groupes contrôle négatifs. Le 95ème percentile de cette distribution est le seuil 2.5 pour PPD 1.5 pour recomb	Série (IFN γ 27-32 jours après ID)	IDS+ et culture + IDS+ et PCR+ PCR+ nasale et lésions IDC+ et trp infecté	NA	Sur les BV IDS+ (prévalence intra-trp variable): Sp =94.3% pr PPD, Sp=100% pr recomb en Argentine, Sp=98.7 pr PPD et recomb au Mexique	Prévalence intra-trp moyenne à forte : 80% des BV IDS+ sont IFN+ (PPD ou recomb) 60% des BV IDS+ sont IFN+ (PPD et recomb) 60% des BV IDS- sont IFN+ Prévalence intra-trp faible : 60% des BV IDS+ IFN PPD+ sont IFN recomb-
	173 BV considérés indemnes	Nulle							
Alvarez <i>et al.</i> 2012 Espagne	6202 BV de 42 trpx ac historique de TB	Forte	IDS (2 seuils d'interprétation) IFN PPD Bovigam (stimulation PPD selon Wood <i>et al.</i> 1990)	2 seuils : 0.05 pour l'interprétation sévère, 0.1 pour la standard (mean ODB - mean OD nil antigen >seuil et > than ODA)	Parallèle	Etat caché (modèle bayésien)	Se : mode de 83.5% (73.6-91.6) à 90% (78.9-96.7) selon critères interprétation	Sp : mode de 85.7% (84.3-88) à 90.4% (89.1-92.7) selon critères interprétation	
Antognoli <i>et al.</i> 2011 etats-Unis	87 BV infectés de 14 trpx	Forte	IDS IFN γ PPD Bovigam ND	Seuil de 0.1 POSITIVE = (mean ODB - mean OD nil antigen \geq 0.1) AND (mean ODB -mean ODA <0.1)	Série (IFN γ 3-30 jours après IDC)	Histo+ et PCR+ Culture+	83.9%	Pour l'ensemble des données, courbe ROC=> cut-off de 0.1 => Sp=89% (88.4-90.1)	
	4123 BV indemnes de 3000 trpx	Nulle		3 seuils de 0.1, 0.3 et 0.5			Pour l'ensemble des données, courbe ROC=> cut-off de 0.1 => Se=93% (84.3-97.7)	90.7% (89.8-91.6), 97% (96.5-97.5) et 98.6 (98.2-98.9) pour seuils 0.1, 0.3 et 0.5	

Abréviations : BV=bovins ; anx=animaux ; trpx=troupeaux ; OD=optical density (densité optique) ; ODB= densité optique pour la PPD bovine ; ODA=densité optique pour la PPD aviaire, ODnil antigen= densité optique pour une stimulation antigénique nulle.

Avis de l'Anses
Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Etude	Population d'étude	Prévalence attendue	Test(s) utilisé(s)	Seuils IFN	Type d'utilisation	Définition du statut BV infecté	Se	Sp	Concordance ID/IFN-g
Faye <i>et al.</i> 2011 France	60 BV de 20 trpx infectés dont 40 anx infectés	Forte	IFN γ PPD (Prionics - 20 μ g/ml) IFN γ recomb (ESAT6 /CFP10 - SSI - 5 μ g/ml)	Différents seuils (choix par courbes ROC) Normalisation des OD : (ODB-ODA)/(ODPC-ODNC) = 0.10/2.40 = 0.04	Série (IFN γ 3-10 jours après IDS)	Culture+ histo+ et/ou PCR+	PPD : Se _r =93% (84-98) ac seuil=0.02 Recom. : Se _r =97% (89-100) ac seuil=0.01		
	492 BV de 25 trpx indemnes	Nulle			Parallèle			PPD : Sp=98% (96.3-99) ac seuil=0.02 Recomb : Sp=95.9% (93.8-97.5) ac seuil=0.01	
	547 BV IDS+ de 172 trpx indemnes en zone infectée	Faible à moyenne			Série (IFN γ 3 jours après IDS)			Sp recomb. = 93.1% (90.6-95.0) Spr PPD= 73.3% (69.4-77.0) ac seuil=0.04	
Gormley <i>et al.</i> 2006 Irlande	767 BV infectés	Forte	IDC IFN γ PPD Bovigam ND	NA	Parallèle	Lésions et/ou culture +	Se = 88%		Sur 197 BV infectés ID- ou douteux, 74% sont IFN PPD +
	1147 BV de 21 trpx indemnes	Nulle						Sp = 95%	
Lauzi <i>et al.</i> 2000 Italie	1557 BV de 30 trpx indemnes de TB et de paraTB	Nulle	IDC IFN γ PPD Bovigam ND	ODB > 2*OD nil ODB- ODA > seuil Différents seuils de 0.05 à 0.5	Parallèle	ID, dosage des anticorps et lésions. Tous les BV sont considérés indemnes		Si les BV IFN douteux sont considérés négatifs : Sp=88% (87.2-90.4) pour seuil de 0.05	
Marassi <i>et al.</i> 2010 Brésil	50 BV du même trp. 21 IDS+ (21 infectés) et 29 IDS- (dont 14 considérés infectés)	Forte	IDS - IDC IFN γ Bovigam ND (PPD brésiliennes)	NA	Série et parallèle (IFN à 0, 7 et 21 jours après ID)	Culture+ PCR+ IDC+	Se J0 = 91.4% Baisse des Se si IFN-g à J7 et J21 mais non significative	Sp J0=86.7%	

Abréviations : BV=bovins ; anx=animaux ; trpx=troupeaux ; OD=optical density (densité optique) ; ODB= densité optique pour la PPD bovine ; ODA=densité optique pour la PPD aviaire ; ODPC=densité optique du témoin positif ; ODNC=densité optique du témoin négatif, ODnil = densité optique pour une stimulation antigénique nulle.

Avis de l'Anses
Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Etude	Population d'étude	Prévalence attendue	Test(s) utilisé(s)	Seuils IFN	Type d'utilisation	Définition du statut BV infecté	Se	Sp	Concordance ID/IFN-g
Molicotti <i>et al.</i> 2011 Italie	26 BV à haut risque	Forte	IDC IFN γ PPD Bovigam ND IFN γ recomb (kit Quantiféron ESAT-6 & CFP10)	Bovigam ND : ODB-ODA \geq 0.1 Recombinants : 0.35 UI/ml	Parallèle	Aucun. On compare les réponses aux différents tests entre elles	NA	NA	Sur 26 BV IDC-, 6 sont PPD + (différence signif.) et 2 sont recomb + (non signif.) Sur 20 BV IDC-, tous sont recomb- et 3 sont PPD + (non signif.)
	20 BV de zone indemne	Faible							
Ryan <i>et al.</i> 2000 Nouvelle-Zélande	163 BV IDS+ infectés de 21 trpx différents	Forte	IDS - IDC IFN γ Australian PPD (CSL Ltd.)	Courbe ROC => seuil de ODB-ODA \geq 0.1	Série (IFN γ 8-28 jours après lecture IDS +. Moyenne de 14 jours)	Combinaison critères épidémiologie et culture+	Se = 85% (72-90)	Sp = 93% (89-96)	
	213 BV IDS+ indemnes de 82 trpx	Nulle							
Scacchia <i>et al.</i> 2000 Italie	36 BV infectés	Forte	IDS IFN γ PPD Bovigam ND (CSL Ltd.) Isolation/typage BACTEC	NA	Parallèle	Combinaison critères épidémiologie et culture+/IDS+	Se = 91.7% (76.4-97.8)	Sp = 84.3% (73.2-91.5)	
	70 anx indemnes de 9 trpx différents	Nulle							
Schiller <i>et al.</i> 2010	Revue	Variable	Ici, IFN γ PPD	Variables	Variables	Variables	Se PPD = 73-100% médiane de 87.6% Se recomb : baisse de près de 10%	Sp=85-99.6%, médiane de 96.6%	
Vordermeier <i>et al.</i> 2006	Revue : 18 études de 11 pays différents	Variable	Ici, IFN γ PPD	Variables	Variables	Variables	Se = 80.9-100 - médiane de 88.4%	Sp = 87.7-99.2 - médiane de 96.6% Defra : 874 BV indemnes => Sp de 96.7% (95.6-97.8%)	

Abréviations : BV=bovins ; anx=animaux ; trpx=troupeaux ; OD=optical density (densité optique) ; ODB= densité optique pour la PPD bovine ; ODA=densité optique pour la PPD aviaire.

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Etude	Population d'étude	Prévalence attendue	Test(s) utilisé(s)	Seuils IFN	Type d'utilisation	Définition du statut BV infecté	Se	Sp	Concordance ID/IFN-g
Wood <i>et al.</i> 2001	Revue	Variable	Ici, IFNy PPD et recomb ESAT-6	Variation	Variation	Variation	Se PPD=76.8%-93.6% (Australie) 87.7% (Irlande) 55.4%-94.7% (USA) 96.6% (Italie) 88% (Espagne) 100% (Brésil) Se ESAT6 = 76.3%	Sp PPD= 96.3% (Australie) 98% (Italie) Sp ESAT6 = 99.2%	

Abréviations : BV=bovins ; anx=animaux ; trpx=troupeaux ; OD=optical density (densité optique) ; ODB= densité optique pour la PPD bovine ; ODA=densité optique pour la PPD aviaire.

ANNEXE E : FACTEURS POUVANT INFLUENCER LES CARACTERISTIQUES DES TESTS

Auteurs	Année	Facteurs étudiés	Résultats
Aagaard <i>et al.</i>	2010	Paratuberculose	Un troupeau infecté de paratuberculose et un troupeau non infecté de paratuberculose ont des réponses IFN γ PPD significativement différentes, ce qui n'est pas le cas pour les réponses IFN γ Ag (antigènes) recombinants. Dans un troupeau infecté de paratuberculose, les OD PPD et Ag recombinants sont significativement différents.
Cagiola <i>et al.</i>	2004	Facteurs d'élevage	Type de production : moins de faux-positifs dans les élevages d'engraissement. Système d'élevage : moins de faux-positifs quand logettes par rapport stabulation.
Coad <i>et al.</i>	2007	ID Durée de stockage du sang	Pas d'influence d'une IDS 3 ou 10 jours avant le prélèvement sur la réponse IFN (cf. Gormley <i>et al.</i> 2004, ≠ Whelan <i>et al.</i> 2004). Pas d'influence de 24h de stockage du sang avant le test sur la réponse IFN γ .
Gormley <i>et al.</i>	2004	ID Durée de stockage du sang	Pas d'influence d'une IDC de 3 à 65 jours avant le prélèvement sur la réponse IFN chez des animaux infectés et IDC fortement positifs. OD moyennes significativement inférieures quand test 24h après prélèvement par rapport à test 8h après prélèvement. Chez animaux IDC+, 75.9%- 97.7% des animaux IFN+ à 8h sont IFN+ à 24h. Chez animaux IDC-, 51.7% des animaux IFN+ à 8h sont IFN+ à 24h.
Gormley <i>et al.</i>	2006 REVUE	ID Tuberculines Malnutrition Corticoïdes Durée de stockage du sang	Résultats variables selon stade d'infection, nombre de BV étudiés, protocole ID et critères d'interprétation du test IFN γ . Combinaisons d'Ag (protéines entières et peptides dérivés) prometteurs pour augmenter la Se du test IFN γ . Pas d'influence sur la réponse IFN γ . Baisse significative de la réponse IFN γ . Résultats variables - cf. Gormley <i>et al.</i> 2004.
de la Rua-Domenech <i>et al.</i>	2006 REVUE	ID	Une IDS caudale peut augmenter la réponse IFN γ chez les bovins infectés. Une IDS au niveau de l'encolure n'augmente pas significativement la réponse IFN γ chez les bovins infectés. Le prélèvement de sang pour test IFN-g peut être réalisé dès 3 jours après l'IDS sans impact sur les conclusions du test. Enc e qui concerne l'IDC les publications sont contradictoires. Chez les animaux naturellement infectés, le prélèvement de sang pour test IFN γ semble pouvoir être réalisé dès 3 jours après l'IDC. Chez les animaux infectés expérimentalement, il serait plus sûr de ne pas réaliser le test IFN γ dans les 7 jours qui suivent une IDC.
Ryan <i>et al.</i>	2000	Durée de stockage du sang	Pas d'influence d'une mise en culture du sang le lendemain par rapport au jour de prélèvement sur les Se/Sp du test IFN γ .
Schiller <i>et al.</i>	2010 REVUE	ID	Pas d'influence d'une IDC avant dosage IFN γ . L'IDS caudale booste la réponse IFN (a priori pdt 7 jours) sans changement majeur de l'interprétation.
Vordermeier <i>et al.</i>	2006 REVUE	ID Durée de stockage du sang	Augmentation des réponses IFN-g après IDS caudale mais pas après IDC à l'encolure. Le prélèvement de sang peut être fait 3 jours après l'IDC sans affecter la Se du test. Culture le jour même ou le lendemain => impact sur OD mais pas sur l'interprétation positif/négatif.

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Auteurs	Année	Facteurs étudiés	Résultats
Waters <i>et al.</i>	2007	Durée et température de stockage du sang	Pré-incubation des échantillons à 37°C pendant 2h => baisse des OD moyennes. Baisse des OD moyennes pour échantillons conservés 8 ou 24h après prélèvement par rapport à culture immédiate (y compris les 2 heures initiales à 37°C). OD identiques quelle que soit la température de conservation (4° ou 22°C).
Whipple <i>et al.</i>	2001	Type de PPD ID Stockage du sang	Pas de différence d'OD entre PPD aviaires US et australiennes. OD PPD bovines US >OD PPD bovines australiennes mais pas de différence de classement positif/négatif. OD + élevées chez animaux sensibilisés quand IDS caudale 3 à 28 jours avant prélèvement par rapport à sans ID préalable. OD test 2h après prélèvement >OD test 24h après mais pas de différence de classement positif/négatif.
Wood <i>et al.</i>	2001 REVUE	ID Durée de stockage du sang	Pas d'influence négative d'une ID avant le test IFNy (augmenterait peut-être la réponse). Pas d'influence de 24h de stockage du sang avant le test.

OD = Optical Density -IDS/IDC = intradermotuberculation simple/comparative

ANNEXE F : RAPPORT D'ANALYSE DES DONNEES DE DEPISTAGE DE LA TUBERCULOSE BOVINE EN VUE D'UNE EVALUATION DES CARACTERISTIQUES DE L'INTERFERON GAMMA ET DE SON UTILISATION DANS LES SCHEMAS DECISIONNELS

Rapport d'analyse des données de dépistage de la tuberculose bovine en vue d'une évaluation des caractéristiques de l'interféron gamma et de son utilisation dans les schémas décisionnels

A Praud¹, J. Dhe¹, J. L Mendez Gomez¹, I. D. Djaïleb¹, J.J. Bénét¹, B Dufour¹

¹ Unité EpiMAI, ENV Alfort USC Anses

Introduction

Bien qu'officiellement indemne de tuberculose bovine (*Mycobacterium bovis*) depuis 2001, la France connaît encore des difficultés concentrées dans certaines régions (figure 1). Ainsi, la prévalence et l'incidence des foyers de tuberculose bovine depuis 2006 reste à peu près constante (en moyenne un total de 100 foyers et 70 nouveaux foyers par an) malgré l'intensification des efforts de lutte.

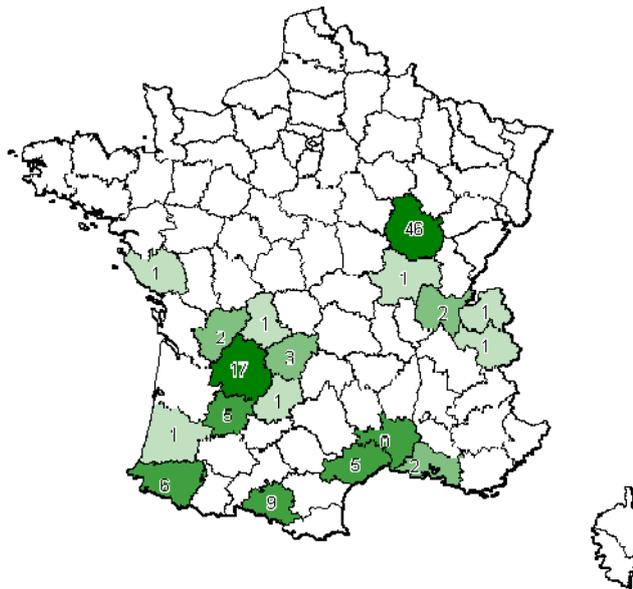


Figure 1 Représentation de l'incidence départementale de foyers de tuberculose bovine en 2010

Les difficultés des zones d'infection résiduelle sont connues : il s'agit majoritairement de zones d'élevage allaitant de grande taille (ce qui majore le risque d'infection : Brooks 2009) dont les bovins passent de longues périodes en pâturage (ce qui limite la fréquence possible des contrôles). La vie économique de ces exploitations est directement dépendante de la vente des « brouards » (jeunes animaux de 6 mois vendus pour l'engraissement essentiellement en Italie). Le blocage de ces troupeaux pendant des semaines est donc particulièrement contraignant sur le plan économique.

Par ailleurs, de nombreuses réactions non négatives sont observées au cours des opérations de dépistage de la tuberculose dans ces zones. La plupart de ces réactions faussement positives, sont directement liées à l'augmentation de la taille des troupeaux qui diminue très fortement la « spécificité troupeau » des intradermoréactions. Elles sont pour la plupart sans doute dues à la présence de nombreuses mycobactéries atypiques dans certaines régions (Bourgogne notamment). La fréquence des réactions non négatives associée aux conséquences économiques résultant du blocage des exploitations suite à ces réactions, conduisent éleveurs et vétérinaires à une certaine démotivation que cinquante années de lutte ne suffisent pas, seules, à expliquer.

C'est dans ce contexte particulier que l'utilisation de l'interféron gamma (IFN), initiée relativement récemment dans ces départements, a permis une relance du dépistage généralisé dans les zones à risque. En effet, les prélèvements sanguins pratiqués sur des animaux présentant des réactions non négatives à

l'intradermoréaction le jour de la lecture permettent, d'une part, d'éviter au vétérinaire d'endosser seul la responsabilité d'un diagnostic non négatif et, d'autre part, de raccourcir notablement les délais de blocage des exploitations dans lesquelles ces réactions sont observées (24 à 48 heures *versus* 6 semaines au minimum). Afin d'encadrer au mieux l'utilisation de l'IFN sur le terrain, des « arbres décisionnels » ont été établis par l'administration vétérinaire en relation avec des scientifiques et proposés dans les départements à risque de manière dérogatoire et expérimentale. Cependant, compte tenu des conditions de réalisation de ce test (qui nécessite une activation des lymphocytes T dans les 6 à 8 heures suivant le prélèvement sanguin), l'IFN n'a pas véritablement fait l'objet d'une validation par le laboratoire national de référence. Après quelques années d'utilisation sur le terrain, il convient donc de tenter d'évaluer, à l'aide des données ainsi générées sur le terrain, les caractéristiques de cet outil. Le travail présenté dans ce document, a été réalisé en grande partie dans le but de fournir des informations à un groupe d'experts de l'Anses pour répondre à une saisine de la DGAI portant sur l'interféron gamma (caractéristiques, détermination des seuils possibles et évaluation des arbres décisionnels utilisés sur le terrain en comparaison de la directive européenne présentée en annexe C).

1. Mise en garde sur les données utilisées

Cette étude a été réalisée à l'aide des données collectées en Côte-d'Or, en Dordogne et en Camargue au cours des opérations de prophylaxie et de police sanitaire dans le cadre de la lutte contre la tuberculose bovine entre octobre 2008 et mai 2012 (en Dordogne), entre novembre 2009 et janvier 2012 (en Côte-d'Or) et entre septembre 2009 et mars 2012 (en Camargue).

ATTENTION : Ces données ont été collectées par les gestionnaires du risque pour suivre la lutte conduite sur le terrain. Elles n'ont donc, à l'origine, pas été produites pour des besoins d'épidémiologie. Ainsi, avant leur utilisation il a été nécessaire de trier ces données et d'en éliminer certaines, notamment celles pour lesquelles l'information était incomplète ou inadaptée à l'analyse épidémiologique conduite.

2. Evaluation des caractéristiques des tests étudiés

2.1. Présentation des données utilisées

2.1.1. Données utilisées selon la zone géographique étudiée

- Côte-d'Or

Zonage et campagne de prophylaxie :

Depuis quelques années, un zonage a été mis en place par arrêté préfectoral. La zone dite « rouge » regroupe les cantons dans lesquels sont localisés la majorité des foyers. Elle est soumise à une prophylaxie annuelle obligatoire (dépistage par IDC), ainsi que quelques autres communes proches de cette zone.

Enfin en ce qui concerne les analyses : deux types d'antigènes étaient utilisés simultanément pour la réalisation du test de dosage de l'Interféron gamma :

- Le kit BovigamND (Prionics) comprenant un antigène de *M. bovis* et un antigène de *M. avium* ;
- Un antigène recombinant (ESAT-6) (qui sera noté ESAT 6 dans le reste de ce texte).

Tables de données :

La Direction Départementale de Protection des Populations de Côte-d'Or (DDPP 21) a entrepris un travail de grande ampleur pour la collecte des résultats de dépistage de la tuberculose bovine il y a plusieurs années. Cependant, leur saisie informatisée sous forme d'une base de données est assez récente. Depuis septembre 2009, le Groupement de Défense Sanitaire de Côte-d'Or (GDS 21) a mis au point une base de données utilisant le logiciel Access® dans le but de permettre une exploitation plus facile et plus rapide des résultats sur le terrain. Comme indiqué précédemment, cette base n'avait pas pour vocation de collecter des données destinées à une analyse épidémiologique ce qui fait que certains besoins épidémiologiques n'ont pas été pris en compte.

Ce travail a donc débuté, en septembre et octobre 2009, par une période de concertation avec les acteurs de terrain de la DDPP 21 dans le but de trouver un compromis entre les besoins de données de notre équipe de recherche, les besoins d'information de la DDPP 21 et les contraintes de terrain (personnel et temps disponibles pour la saisie des données notamment).

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Une première base de données est née de cette concertation, utilisée au cours de la campagne de dépistage 2009-2010 puis améliorée au cours des campagnes suivantes. Cette base est également utilisée (depuis 2010) par la DDCSPP de Dordogne pour la saisie des résultats de prophylaxie et de police sanitaire vis-à-vis de la tuberculose bovine dans ce département.

La base a été construite selon cinq grands volets :

- un ensemble de tables permettant l'**identification des cheptels du département et l'enregistrement de leurs caractéristiques (à partir de la base SIGAL)** : localisation, type de production, nombre d'animaux, vétérinaire traitant et statut sanitaire vis-à-vis de grandes maladies animales ;
- un ensemble de tables correspondant aux **résultats collectifs de prophylaxie** dans les cheptels dépistés de manière systématique (*i.e.* IDC sur les animaux de plus de 24 mois, annuellement dans tous les élevages du département). Ces résultats (nombre de bovins ayant obtenu un résultat positif / négatif / douteux en IDC, nombre de bovins ayant obtenu un résultat positif / négatif / douteux à la tuberculine bovine, nombre de bovins ayant obtenu un résultat positif à la tuberculine aviaire) étaient saisis par numéro de cheptel (numéro national EDE) et par date d'intervention du vétérinaire sanitaire dans l'exploitation (plusieurs interventions pouvant être nécessaires pour ces élevages de grands effectifs). Les modalités de prophylaxie de la tuberculose bovine en Côte-d'Or durant la période étudiée sont présentées dans l'annexe A;
- un ensemble de tables correspondant aux résultats individuels (pour chaque bovin) obtenus au cours des opérations de **police sanitaire**, c'est-à-dire dans les cheptels « suspects » (cheptels dans lesquels des résultats non négatifs ont été enregistrés) que cette suspicion soit confirmée ou infirmée et dans les cheptels infectés dénommés par la suite « foyers ». Etaient notamment répertoriés dans la base les résultats aux tests *ante-mortem* (IDC, IFN) et *post-mortem* (examen macroscopique, analyse histologique, coloration de Ziehl-Nielsen, PCR, culture avec caractérisation de la souche incriminée lorsque *Mycobacterium bovis* est confirmé). Ces informations étaient saisies par numéro de bovin (numéro national d'identification) ;
- un ensemble de tables récapitulant le **contexte épidémiologique pour chaque élevage du département** : localisation à risque (ou non) par rapport à la zone historiquement majoritairement atteinte de tuberculose bovine (dite « zone rouge »), lien épidémiologique éventuel avec un foyer (pâturages mitoyens, vente d'un animal ...) ;
- enfin, un volet utilisé par la DDPP 21 récapitulait l'avancée technique des opérations de prophylaxie et / ou police sanitaire conduites dans chaque élevage et les **données nécessaires à leur gestion** financière (rémunération des actes des vétérinaires et aides financières pour les éleveurs).

Un travail important de réorganisation des données, de croisement et de vérification des informations saisies dans la base a été effectué. De ce premier travail est née une seconde base, épurée d'un nombre important d'animaux et de troupeaux pour lesquels l'information était incomplète, regroupant les fichiers de travail nécessaires à la suite de notre étude.

- **Dordogne**

Depuis 2010, la DDCSPP de Dordogne utilise l'application développée avec le logiciel Access® par le département de la Côte-d'Or pour la gestion des cas de tuberculose bovine (*cf.* ci-dessus). Une saisie rétroactive de données concernant l'IDS des campagnes 2007/2008 et 2008/2009 a également été réalisée. L'analyse suivante porte donc essentiellement sur des données collectées entre 2008 et 2012.

Le test de dosage à l'interféron gamma (IFN) a été utilisé à titre expérimental en Dordogne depuis avril 2007. Ce test est réalisé systématiquement après l'observation d'une IDS non négative, afin de pouvoir lever (éventuellement), le blocage des cheptels concernés plus rapidement que par l'usage d'une IDC six semaines après l'IDS initiale.

Zonage et campagne de prophylaxie :

Depuis 2007, un zonage a été mis en place par arrêté préfectoral (AP 21/11/07). La zone dite « à risque » regroupe les cantons dans lesquels sont localisés la majorité des foyers. Elle est soumise à une prophylaxie annuelle obligatoire (dépistage par IDS), ainsi que quelques autres communes proches de cette zone.

Le reste du département est soumis à un rythme de prophylaxie biennal par IDS.

Deux types d'antigènes étaient utilisés simultanément pour la réalisation du test de dosage de l'Interféron gamma :

- Le kit Bovigam® (Prionics) ; comprenant un antigène de *M. bovis* et un antigène de *M. avium* ;

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

- Un « cocktail » d'antigènes recombinants (ESAT-6 et CFP-10) noté « recombinants » dans la suite de ce texte.

La DDCSPP Dordogne a utilisé **deux arbres décisionnels** au cours des 3 dernières campagnes. L'arbre utilisé pour les campagnes 2009-2010 et 2010—2011 est présenté dans l'annexe B

- Campagne 2009/2010 et 2010/2011: Le test de l'IFN était réalisé systématiquement et immédiatement sur les animaux ayant fourni un résultat non négatif à l'IDS:
 - Un IFN négatif conduisait au maintien de la qualification indemne du cheptel ;
 - Un IFN positif ou divergent recombinant positif (avec Bovigam donnant un résultat négatif et les antigènes recombinants fournissant un résultat positif noté dans ce texte DIVrec+) conduisait au blocage de l'exploitation en cause, à la suspension de la qualification indemne (APMS) et à l'abattage diagnostique des animaux réagissants ;
 - Un IFN divergent avec PPD fournissant un résultat positif (noté dans ce texte DIVppd+) entraînait la réalisation d'une expertise par la DDCSPP (tests complémentaires et étude du contexte/liens épidémiologique, suivi sanitaire et antécédents) ;
 - Si les conclusions de l'expertise étaient favorables, le cheptel était soit directement requalifié, soit soumis à un recontrôle IFN pour les animaux IFN divergent ;
 - Dans le cas d'une conclusion défavorable de l'expertise, un recontrôle IFN pour les animaux IFN divergent était réalisé, ainsi qu'une IDC sur un lot d'animaux (25% du cheptel, 25 animaux minimum).
- Campagne 2011/2012 : Le test IFN était également réalisé dès l'observation d'une IDS non négative. Cependant, la suite du protocole était différente :
 - Dans le cas d'un IFN négatif, une limitation partielle de mouvements pour les animaux IDS non négatif était appliquée, suivie d'une IDC sur les mêmes animaux ; Une IDC non négative entraînait un blocage total de l'exploitation (APMS) suivi d'un IFN et d'un abattage diagnostique des animaux réagissants ;
 - Dans le cas d'un IFN positif, le troupeau était bloqué (APMS) et un abattage diagnostique des animaux réagissants était réalisé. Si le résultat de cet abattage diagnostique était négatif, une IDC était réalisée sur tous les bovins de plus de 6 semaines de l'exploitation.

Certains cheptels sont placés sous suivi renforcé. Un protocole propre a été développé dans ce cas conduisant entre autres en la réalisation de tests IDS et IFN en parallèle, annuellement.

Il est important de préciser qu'au cours de ces trois campagnes, les seuils d'interprétation du test de dosage de l'interféron gamma ont été modifiés Tableau 1:

Tableau 1: Valeur des seuils de positivité de l'IFN au cours des campagnes 2009/2010, 2010/2011 et 2011/2012 en Dordogne

Test Interféron Gamma	Campagne 2009/2010 et 2010/2011	Campagne et 2011/2012
Bovigam®	0,05	0,03
Recombinant	0,03	0,02

La base Access :

La base de données Access® est construite selon le même schéma que la base utilisée en Côte-d'Or :

- Une table présentant l'identification des cheptels du département et leurs caractéristiques : localisation, type de production, vétérinaire traitant...
- Un ensemble de tables correspondant **aux résultats collectifs** de la prophylaxie dans les cheptels dépistés de manière systématique, des résultats de police sanitaire ou des contrôles de vente. Les résultats des tests à l'interféron gamma, d'IDS ou d'IDC y figurent. Ces informations sont saisies par numéro de cheptel ;
- Un ensemble de table correspondant **aux résultats individuels** (pour chaque bovin) obtenus à la suite de l'abattage diagnostique, issu d'un foyer, à la suite d'une réhabilitation, ou d'une suspicion au cours de la prophylaxie, d'une découverte fortuite à l'abattoir ou de l'observation de lésions au cours d'un abattage partiel ou total. Les résultats des tests *ante-mortem* (IDS, Interféron gamma et IDC) et *post-mortem* (examen macroscopique, analyse histologique, coloration de Ziehl-Nielsen, PCR, culture

- avec caractérisation de la souche incriminée) sont renseignés. Ces informations sont saisies par numéro de bovin ;
- Un ensemble de tables présentant le contexte épidémiologique et le type de suivi:
 - o La description des liens épidémiologiques (voisinage, bétailière, matériel ou mouvement) pour certains élevages du département avec un foyer.
 - o Le motif de suivi d'un cheptel: lien épidémiologique, à la suite d'un animal issu, d'un APDI, d'un IFN divergent ou dans le cas d'un cheptel en suivi renforcé ;
 - Enfin, les données nécessaires à la gestion financière.

Un travail important de réorganisation des données, de croisement et de vérification des informations saisies dans la base a été effectué. De ce premier travail est née une seconde base, épurée d'un nombre important d'animaux et troupeaux pour lesquels l'information était incomplète, regroupant les fichiers de travail nécessaires à la suite de notre étude.

- **Camargue**

En complément à cette étude, les données collectées entre septembre 2009 et mars 2012 au cours des opérations de prophylaxie de la tuberculose bovine dans chacun des trois départements de Camargue (Bouches-du-Rhône, Gard, Hérault) ont été analysées. Ces données étaient présentées sous la forme de trois tableaux Excel regroupant respectivement les résultats d'animaux infectés, d'animaux appartenant à des cheptels infectés et d'animaux appartenant à des troupeaux indemnes.

Dans ces trois départements, le dosage de l'interféron (au moyen du kit Bovigam®) est utilisé annuellement en prophylaxie de manière systématique sur tous les bovins âgés de plus de 24 mois, à la place de l'intradermotuberculination. Cette dernière n'est plus utilisée en « routine » en raison des caractéristiques propres à la production bovine dans cette région (manades très étendues, contention des animaux difficile à mettre en œuvre, animaux élevés pour le combat...) qui compliquent la réalisation et l'interprétation de l'intradermotuberculination.

2.1.2. Données utilisées pour le calcul de la sensibilité des tests

La sensibilité individuelle des tests a été étudiée dans une population d'animaux pour lesquels l'isolement de *Mycobacterium bovis* a été confirmé au Laboratoire National de Référence Tuberculose (Laboratoire de Santé Animale, ANSES, Maisons-Alfort, LNR). Pour l'interféron gamma, cette sensibilité « troupeau » ne prend en compte qu'un petit nombre d'animaux, ceux pour lesquels le test à l'interféron gamma a été effectué. Deux termes ont été définis : la « **sensibilité brute** » pour le calcul de laquelle seuls les résultats positifs ont été retenus (les douteux sont inclus dans le groupe de négatifs) ; « **la sensibilité UE** » pour le calcul de laquelle les critères de l'Union Européenne ont été retenus (en agrégeant résultats positifs et douteux).

La sensibilité collective (« sensibilité troupeau ») des tests a été étudiée dans les troupeaux dans lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé au Laboratoire National de Référence Tuberculose (Laboratoire de Santé Animale, ANSES, Maisons-Alfort). Les deux définitions précédentes (Se brute, et Se UE) ont été prises en compte de la même façon.

Remarque : La sensibilité des tests a été évaluée à l'aide des résultats *ante-mortem* individuels disponibles pour des bovins sur lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au LNR Tuberculose de l'ANSES. Afin de préserver l'indépendance des individus, lorsqu'un troupeau comportait plusieurs animaux infectés, un seul animal a été tiré au sort par troupeau. Une seconde approche a permis d'évaluer la sensibilité de ces tests à l'échelle du troupeau.

2.1.3. Données utilisées pour le calcul de la spécificité des tests

La spécificité individuelle des tests a été étudiée chez des animaux provenant d'élevages indemnes de tuberculose bovine, situés dans des zones géographiques à faible risque épidémiologique de tuberculose bovine, dans lesquelles aucun foyer n'a été mis en évidence au cours de la période d'étude (voire depuis 2000 en Dordogne et 2004 en Côte d'Or) et n'ayant pas été en lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose au cours de cette même période. La spécificité collective (« spécificité troupeau ») des tests a été étudiée dans ces mêmes troupeaux.

2.1.4. Données utilisées pour l'étude des seuils de positivité du dosage de l'interféron gamma

Des courbes ROC ont été construites pour chaque type d'antigène utilisé afin d'estimer des seuils de positivité optimisant à la fois la sensibilité et la spécificité de chacun des tests, en Côte-d'Or (pour le Bovigam et l'ESAT-6) et en Camargue (pour le Bovigam).

Les résultats chiffrés ont été exprimés sous une forme dite « normalisée » (et non exprimés sous forme de densités optiques brutes) afin de limiter les variations de résultats liées aux différents lots de kit utilisés. Les formules « normalisées » pour chacun des deux tests étaient les suivantes (S. Faye *et al.* 2008) :

Résultat au test Bovigam® : % DO = (PPD Bovine – PPD Aviaire) / (Témoin positif – Témoin négatif)

Résultat au test ESAT : % DO = (ESAT – PBS) / (Témoin positif – Témoin négatif)

Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel R chargé du package DiagnosisMed.

2.2. Résultats obtenus en Côte-d'Or

2.2.1. Sensibilité et spécificité des tests

- **Intradermo tuberculination double comparative (IDC)**

La sensibilité individuelle de l'IDC a été estimée à partir des résultats individuels de 45 animaux infectés (provenant de 45 foyers). Sur chaque animal retenu, *Mycobacterium bovis* a été isolé en culture au LVD et confirmé au LNR après abattage diagnostique.

Les résultats individuels de ces animaux sont présentés dans le Tableau 2.

Tableau 2: Résultats d'IDC de 45 bovins infectés pour lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au LNR Tuberculose en Côte-d'Or

Résultat d'IDC	Nombre de bovins infectés
Positif	29
Douteux	15
Négatif	1
Total	45

La sensibilité individuelle brute de l'IDC (*i.e.* résultats douteux considérés comme négatifs) était de 64% ([50% ; 78%]_{IC95}) (Intervalle de Confiance (IC) 95%). La **sensibilité individuelle « UE » de l'IDC** dans les conditions d'interprétation prévues par la réglementation européenne (*i.e.* résultats douteux considérés comme positifs) était de **98%** ([93% ; 100,0%]_{IC 95%}).

La sensibilité « troupeau » de l'IDC a été évaluée à partir des résultats collectifs d'IDC des 45 troupeaux dans lesquels l'isolement de *M. bovis* a été confirmé par le LNR (sur un total de 244 bovins) Le nombre d'animaux par troupeau pris en compte dans le calcul est faible signant un recontrôle partiel des animaux dans ces troupeaux en assainissement. Le résultat d'IDC était considéré comme

- positif à l'échelle du troupeau si au moins un animal avait fourni un résultat positif,
- douteux si aucun animal n'avait fourni de réponse positive et si au moins un animal avait fourni une réponse douteuse.
- négatif si tous les animaux étudiés avaient fourni un résultat négatif.

N'ont été pris en compte que les élevages associant des résultats d'isolement confirmés par le LNR et une IDC pratiquée dans une fenêtre chronologique correspondant à la date de l'APDI ± 2 mois (correspondant à la notion de « foyer en cours » dans la suite du texte).

Les résultats collectifs de ces troupeaux sont présentés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Résultats collectifs d'IDC dans 45 foyers "en cours" en Côte d'Or

Résultat d'IDC	Nombre de troupeaux infectés
Positif	36
Douteux	8
Négatif	1
Total	45

La sensibilité « troupeau » brute de l'IDC était de 80% ([68% ; 92%]_{IC 95%}). **La sensibilité troupeau « UE » de l'IDC était de 98%** ([93% ; 100%]_{IC 95%}).

La spécificité de l'IDC a été estimée à l'aide des résultats de prophylaxie de cheptels indemnes situés en zone à bas risque épidémiologique de tuberculose (dite « zone blanche »), dans lesquels aucun foyer n'a été identifié entre 2004 et 2012 et n'ayant présenté ni lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose ni risque épidémiologique vis-à-vis de cette maladie au cours de cette période.

La spécificité individuelle de l'IDC a été estimée à partir de :

- 63 017 résultats individuels aux tests pratiqués au cours de la campagne de prophylaxie 2009-2010 ;
- 62 640 tests au cours de la campagne de prophylaxie 2010-2011 ;
- 19 722 tests au cours de la première partie de la campagne 2011-2012.

Les résultats ont été interprétés campagne par campagne en raison du fait que ces résultats étaient saisis collectivement et qu'il était impossible d'identifier les animaux testés plusieurs fois au cours des trois années d'étude.

Les résultats d'IDC des bovins indemnes sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Résultats d'IDC de bovins indemnes au cours des trois campagnes étudiées en Côte-d'Or

Résultats d'IDC	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011		Campagne 2011-2012	
	Nombre de bovins indemnes	%	Nombre de bovins indemnes	%	Nombre de bovins indemnes	%
Positif	57	0,10	65	0,10	23	0,12
Douteux	715	1,13	835	1,33	409	2,07
Négatif	62 245	98,77	61 740	98,57	19 290	97,81
Total	63 017	100	62 640	100	19 722	100
Spécificité	98,77% [98,68-98,86]		98,57% [98,48-98,68]		97,81%[97,61-98,01]	

La spécificité « troupeau » de l'IDC a été estimée à partir des résultats obtenus en prophylaxie dans :

- 724 troupeaux au cours de la campagne 2009-2010 (soit 63 017 bovins);
- 722 troupeaux au cours de la campagne 2010-2011 (soit 62 640 bovins);
- 97 troupeaux au cours de la première partie de la campagne 2011-2012 (soit 19 722 bovins).

Un résultat « troupeau » est considéré comme positif si un seul de ses animaux obtient un résultat positif ;

Un résultat « troupeau » est considéré comme douteux si au moins si un de ses animaux obtient un résultat douteux (mais aucun n'est positif) ;

Un résultat « troupeau » est considéré comme négatif si tous ses animaux obtiennent des résultats négatifs.

Les résultats collectifs d'IDC dans ces cheptels sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats d'IDC de 724 élevages indemnes au cours des trois campagnes étudiées en Côte-d'Or

Résultats d'IDC	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011		Campagne 2011-2012	
	Nombre de troupeaux indemnes	%	Nombre de troupeaux indemnes	%	Nombre de troupeaux indemnes	%
Positif	42	5,82	45	6,15	16	6,93
Douteux	119	16,48	257	35,6	118	51,08
Négatif	561	77,70	422	58,29	97	41,99
Total	722	100	724	100	231	100
Spécificité	77,7% [74,7% ; 80,7%]		58,3% [54,7 ; 61,9%]		42,0% [35,6 ; 48,4%]	

- **Intradermotuberculation simple (IDS)**

La sensibilité individuelle de l'IDS a été estimée à partir des résultats individuels de 23 animaux infectés (provenant de 23 foyers), pour lesquels l'isolement de *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au LNR après abattage diagnostique. Le test réalisé en première intention en Côte-d'Or est l'IDC, à l'exception de quelques animaux (contrôle lors de vente par exemple). Les résultats d'IDS ont donc été déduits des résultats d'IDC grâce à une saisie séparée des réactions aux injections de tuberculine aviaire et bovine.

Remarque : Le nombre de résultats disponibles individuellement est plus faible que le nombre de résultats collectifs en raison de la présence de résultats incomplets et d'individus infectés pour lesquels les résultats individuels n'étaient pas disponibles (découvertes fortuites d'abattoir notamment). Les résultats individuels de ces animaux sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Résultats d'IDS de 23 bovins infectés pour lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au LNR Tuberculose en Côte d'Or

Résultat d'IDS	Nombre de bovins infectés
Positif	16
Douteux	4
Négatif	3
Total	23

La sensibilité individuelle brute de l'IDS était de 70% ([51% ; 88%]_{IC95%}). La sensibilité individuelle « UE » de l'IDS était de 87% ([73% ; 100%]_{IC95%}).

La sensibilité « troupeau » de l'IDS a été évaluée à partir des résultats collectifs d'IDS de 33 troupeaux infectés (correspondant à 340 bovins) dans lesquels l'isolement de *M. bovis* a été confirmé par le LNR, dans une fenêtre chronologique correspondant à la date de l'APDI ± 2 mois (« foyer en cours »).

Les résultats collectifs de ces troupeaux sont présentés dans le tableau 7

Tableau 7 : Résultats collectifs d'IDS dans 33 foyers "en cours" en Côte-d'Or

Résultat d'IDS	Nombre de troupeaux infectés
Positif	24
Douteux	7
Négatif	2
Total	33

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

La sensibilité « troupeau » brute de l'IDS était de 72% ([58% ; 88%]_{IC95%}). **La sensibilité « troupeau » « UE » de l'IDS était de 93%** ([86% ; 100%]_{IC95%}).

De même que précédemment, la spécificité de l'IDS a été estimée à l'aide des résultats de prophylaxie (en ne prenant en compte que la réaction à la tuberculine bovine de l'IDC) des cheptels indemnes situés en zone à bas risque épidémiologique de tuberculose (dite « zone blanche »), dans lesquels aucun foyer n'a été identifié depuis 2004 et n'ayant présenté ni lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose ni risque épidémiologique vis-à-vis de cette maladie.

La spécificité individuelle de l'IDS a été estimée à partir de :

- 63 017 résultats individuels aux tests pratiqués au cours de la campagne de prophylaxie 2009-2010 ;
- 62 640 tests au cours de la campagne de prophylaxie 2010-2011 ;
- 19 722 tests au cours de la première partie de la campagne 2011-2012.

Les résultats ont été interprétés campagne par campagne en raison du fait que ces résultats étaient saisis collectivement et qu'il était impossible d'identifier les animaux testés plusieurs fois au cours des trois années d'étude.

Les résultats d'IDS des bovins indemnes sont présentés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Résultats d'IDS de bovins indemnes au cours des trois campagnes étudiées en Côte-d'Or

Résultats d'IDS	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011		Campagne 2011-2012	
	Nombre de bovins indemnes	%	Nombre de bovins indemnes	%	Nombre de bovins indemnes	%
Positif	503	0,80	550	0,88	180	0,91
Douteux	1533	2,46	1755	2,80	551	2,79
Négatif	60 961	96,74	60 335	96,32	18 991	96,30
Total	63 017	100	62 640	100	19 722	100
Spécificité	96,74% [96,60% ; 96,88%]		96,32% [96,17% ; 96,47%]		96,30% [96,04% ; 96,56%]	

La spécificité « troupeau » de l'IDS a été estimée à partir des résultats obtenus en prophylaxie dans :

- 724 troupeaux au cours de la campagne 2009-2010 (soit 63 017 bovins);
- 722 troupeaux au cours de la campagne 2010-2011 (soit 62 640 bovins);
- 97 troupeaux au cours de la première partie de la campagne 2011-2012 (soit 19 722 bovins).

Les résultats collectifs d'IDS dans ces cheptels sont présentés dans le Tableau 9.

Tableau 9: Résultats d'IDS de troupeaux indemnes au cours des trois campagnes étudiées en Côte-d'Or

Résultats d'IDS	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011		Campagne 2011-2012	
	Nombre de troupeaux indemnes	%	Nombre de troupeaux indemnes	%	Nombre de troupeaux indemnes	%
Positif	196	27,15	165	22,79	53	29,94
Douteux	190	26,31	148	20,44	33	14,29
Négatif	336	46,54	411	56,77	145	62,77
Total	722	100	724	100	231	100
Spécificité	46,5% [42,9% ; 50,2%]		56,7% [53,2% ; 60,4%]		62,7% [56,4% ; 69,0%]	

- **Interféron gamma (IFN)**

Deux types d'antigènes ont été utilisés simultanément pour la réalisation du test de dosage de l'Interféron gamma dans ce département :

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

- Le kit Bovigam®
- Un antigène recombinant, l'ESAT-6.

Les résultats obtenus étaient interprétés de la manière suivante (Tableau 10).

Tableau 10 : Interprétation des résultats du dosage de l'interféron gamma au LVD de Côte-d'Or

Bovigam®	ESAT-6	Interprétation globale
Positif	Positif	Positif
Positif	Négatif	Divergent
Négatif	Positif	Divergent

La sensibilité des tests de dosage d'IFN a été évaluée à partir des résultats de 23 bovins (provenant de 23 foyers) pour lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé par le LNR Tuberculose.

Le détail des résultats individuels croisés de ces animaux est présenté dans le tableau 11.

Le récapitulatif des résultats aux tests Bovigam®, ESAT-6 et l'interprétation globale (c'est-à-dire tenant compte des résultats aux deux antigènes) sont présentés respectivement dans les tableaux 12, 13 et 14 (résultats ininterprétables exclus).

Remarque : Le nombre de résultats disponibles individuellement est plus faible que le nombre de résultats collectifs en raison de la présence de résultats incomplets et d'individus infectés pour lesquels les résultats individuels n'étaient pas disponibles (découvertes fortuites d'abattoir notamment).

Tableau 11 : Résultats individuels croisés de 23 bovins infectés sur lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé au LNR Tuberculose en Côte-d'Or

Bovigam®	ESAT 6	IFN global	Nombre de bovins infectés
Positif	Positif	Positif	12
Positif	Négatif	Divergent	2
Positif	Ininterprétable	Ininterprétable	1
Négatif	Positif	Divergent	6
Négatif	Négatif	Négatif	2
TOTAL			23

Tableau 12 : Récapitulatif des résultats de Bovigam® en Côte d'Or chez 23 animaux sur lesquels *M. bovis* a été confirmé au laboratoire

Résultat de Bovigam®	Nombre de bovins infectés
Positif	15
Négatif	8
Total	23

La sensibilité individuelle du kit Bovigam® était de 65% ([46% ; 85%]_{IC 95%}).

Tableau 13: Récapitulatif des résultats d'ESAT 6 en Côte-d'Or chez 22 animaux sur lesquels *M. bovis* a été confirmé au laboratoire

Résultat d'ESAT 6	Nombre de bovins infectés
Positif	18
Négatif	4
Total	22

La sensibilité individuelle du test ESAT 6 était de 82% ([66% ; 98%]_{IC 95%}).

Tableau 14 : Récapitulatif des résultats d'IFN global (résultats divergents interprétés comme positifs) en Côte-d'Or chez 22 animaux sur lesquels *M. bovis* a été confirmé au laboratoire

Résultat d'IFN global	Nombre de bovins infectés
Positif	12
Divergent	8
Négatif	2
Total	22

La sensibilité individuelle brute de l'IFN gamma global était de 55% ([34% ; 75%]_{IC95%}). **La sensibilité individuelle « UE » de l'IFN global était de 91%** ([79% ; 100%]_{IC95%}).

La sensibilité « troupeau » des tests de dosage d'IFN a été évaluée à partir des résultats de 28 troupeaux infectés dans lesquels *M. bovis* a été confirmé au LNR Tuberculose (soit 1040 bovins). Le récapitulatif des résultats aux tests Bovigam®, ESAT-6 et l'interprétation globale sont présentés respectivement dans les tableaux 15, 16 et 17.

Tableau 15 : Récapitulatif des résultats collectifs de Bovigam® de 28 foyers en Côte-d'Or

Résultat de Bovigam®	Nombre de troupeaux infectés
Positif	26
Négatif	2
Total	28

La sensibilité « troupeau » du kit Bovigam® était de 93% ([83% ; 100%]_{IC95%}).

Tableau 16 : Récapitulatif des résultats collectifs d'ESAT 6 de 28 foyers en Côte-d'Or

Résultat d'ESAT 6	Nombre de troupeaux infectés
Positif	27
Négatif	1
Total	28

La sensibilité « troupeau » du test ESAT 6 était de 96% ([90% ; 100%]_{IC95%}).

Tableau 17 : Récapitulatif des résultats collectifs d'IFN global (résultats divergents interprétés comme positifs) de 28 foyers en Côte-d'Or

Résultat d'IFN global	Nombre de troupeaux infectés
Positif	23
Divergent	4
Négatif	1
Total	28

La sensibilité « troupeau » brute de l'IFN gamma global était de 82% ([68% ; 96%]_{IC95%}). **La sensibilité troupeau « UE » de l'IFN global était de 96%** ([90% ; 100%]_{IC95%}).

La spécificité individuelle du dosage de l'interféron gamma a été estimée à partir des résultats individuels de 361 bovins appartenant à 154 troupeaux indemnes situés en zone blanche, dans lesquels aucun foyer n'a été identifié depuis 2004, n'ayant pas été en lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose bovine et ne présentant pas de risque sanitaire particulier vis-à-vis de la tuberculose bovine.

Remarque : Etant donné les conditions d'utilisation de l'IFN en Côte-d'Or, tous ces troupeaux ont fait l'objet d'une suspicion suite à l'observation de résultats non négatifs en IDC et ont vu la suspension de leur qualification indemne levée par la suite. Les spécificités estimées de l'IFN sont donc conditionnelles à l'existence de réactions non négatives à l'IDT dans le même troupeau. Cette approche engendre un biais, mais aucun résultat de dosage d'interféron gamma n'était disponible dans les troupeaux n'ayant pas été placés sous suspicion.

Le détail des résultats individuels croisés de ces animaux est présenté dans le Tableau 18 Le récapitulatif des résultats aux tests Bovigam®, ESAT-6 et leur interprétation globale sont présentés respectivement dans les tableaux 19, 20 et 21 (résultats ininterprétables exclus).

Tableau 18 : Résultats individuels croisés de 361 bovins indemnes en Côte-d'Or

Bovigam®	ESAT 6	IFN global	Nombre de bovins indemnes
Positif	Positif	Positif	24
Positif	Négatif	Divergent	118
Positif	Ininterprétable	Ininterprétable	1
Négatif	Positif	Divergent	10
Négatif	Négatif	Négatif	200
Ininterprétable	Positif	Ininterprétable	2
Ininterprétable	Négatif	Ininterprétable	6
TOTAL			361

Tableau 19 : Récapitulatif des résultats de Bovigam® chez 353 bovins indemnes en Côte-d'Or

Résultat de Bovigam®	Nombre de bovins indemnes
Positif	143
Négatif	210
Total	353

La spécificité individuelle du kit Bovigam® était de 59,5% ([53,4% ; 64,6%]_{IC95%}).

Tableau 20 : Récapitulatif des résultats d'ESAT 6 chez 360 bovins indemnes en Côte-d'Or

Résultat d'ESAT 6	Nombre de bovins indemnes
Positif	36
Négatif	324
Total	360

La spécificité individuelle du test ESAT 6 était de 90,0% ([86,9% ; 93,1%]_{IC95%}).

Tableau 21 : Récapitulatif des résultats d'IFN global chez 352 bovins indemnes en Côte-d'Or

Résultat d'IFN global	Nombre de bovins indemnes
Positif	24
Divergent	128
Négatif	200
Total	352

La spécificité individuelle de l'IFN global était de 56,8% ([51,6% ; 62,0%]_{IC95%}).

La spécificité « troupeau » de l'IFN a été estimée dans les 154 troupeaux décrits ci-dessus, (soit 361 bovins). Le récapitulatif des résultats collectifs aux tests Bovigam®, ESAT-6 et leur interprétation globale sont présentés respectivement dans les tableaux 22, 23 et 24.

Tableau 22 : Récapitulatif des résultats de Bovigam® dans 151 troupeaux indemnes en Côte-d'Or

Résultat de Bovigam®	Nombre de troupeaux indemnes
Positif	65
Négatif	86
Total	151

La spécificité « troupeau » du kit Bovigam® était de 57,0% ([49,1% ; 64,9%]_{IC95%}).

Tableau 23 : Récapitulatif des résultats d'ESAT 6 dans 154 troupeaux indemnes en Côte-d'Or

Résultat d'ESAT 6	Nombre de troupeaux indemnes
Positif	18
Négatif	136
Total	154

La spécificité « troupeau » du test ESAT 6 était de 88,3% ([83,2% ; 93,4%]_{IC95%}).

Tableau 24 : Récapitulatif des résultats d'IFN global dans 148 troupeaux indemnes en Côte d'Or

Résultat d'IFN global	Nombre de troupeaux indemnes
Positif	10
Divergent	59
Négatif	79
Total	148

La spécificité « troupeau » de l'IFN global était de 53,4% ([45,3% ; 61,4%]_{IC95%}).

- Tableaux récapitulatifs des résultats

Les résultats de sensibilité et de spécificité obtenus sont récapitulés dans les Tableaux 25 et 26 respectivement.

Tableau 25 : Récapitulatif des résultats de sensibilité de l'IFN (conditionnelle à l'obtention d'une IDC non négative) en Côte-d'Or

TEST	Sensibilité individuelle (Se_i)			Sensibilité « troupeau » (Se_T)		
	n	Se_i Brute	Se_i UE	n'	Se_T Brute	Se_T UE
IFN	Bovigam®	23	65% [46% ; 85%]	28	93% [83% ; 100%]	
	ESAT 6	22	82% [66% ; 98%]	28	96% [90% ; 100%]	
	Global	22	55% [34% ; 75%]	91% [79% ; 100%]	28	96% [90% ; 100%]

Tableau 26 : Récapitulatif des résultats de spécificité de l'IFN (conditionnelle à l'obtention d'une IDC non négative) en Côte-d'Or

TEST	Spécificité individuelle (Sp_i)		Spécificité « troupeau » (Sp_T)		
	n	Sp_i	n'	Sp_T	
IFN	Bovigam®	353	59,5% [53,4% ; 64,6%]	151	57,0% [49,1% ; 64,9%]
	ESAT 6	360	90,0% [86,9% ; 93,1%]	154	88,3% [83,2% ; 93,4%]
	Global	352	56,8% [51,6% ; 62,0%]	148	53,4% [45,3% ; 61,4%]

2.2.2. Etude des seuils de positivité du kit Bovigam® et de l'antigène ESAT-6 en Côte-d'Or

Les données nécessaires à la construction de ces courbes étaient disponibles pour 19 bovins infectés (9 résultats en Bovigam et 19 résultats en ESAT) et 40 bovins indemnes (en Bovigam® et en ESAT). Les calculs ont été effectués à l'aide du package DiagnosisMed du logiciel R. Les courbes ROC tracées pour le kit Bovigam® et l'antigène ESAT-6 sont présentées sur les Figure 2 et 3.

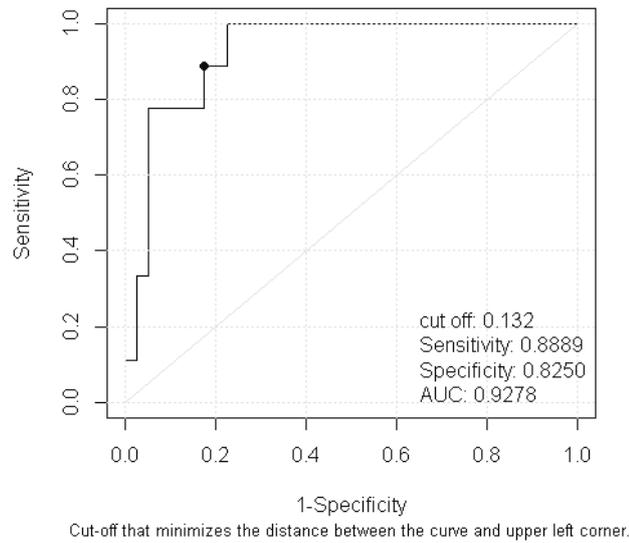


Figure 2 : Courbe ROC pour le test Bovigam® en Côte-d'Or

Le cut-off optimal pour le kit Bovigam® étudié en Côte-d'Or correspondait à un pourcentage de DO (exprimé à l'aide de la formule normalisée) de 0,13.

L'aire sous la courbe (AUC) était de 0,9278 [0,8529 ; 1]_{IC95%}. La sensibilité au seuil optimal était de 0,8889 [0,5650 ; 0,9801]_{IC95%} et la spécificité associée était de 0,8250 [0,6805 ; 0,9125]_{IC95%}.

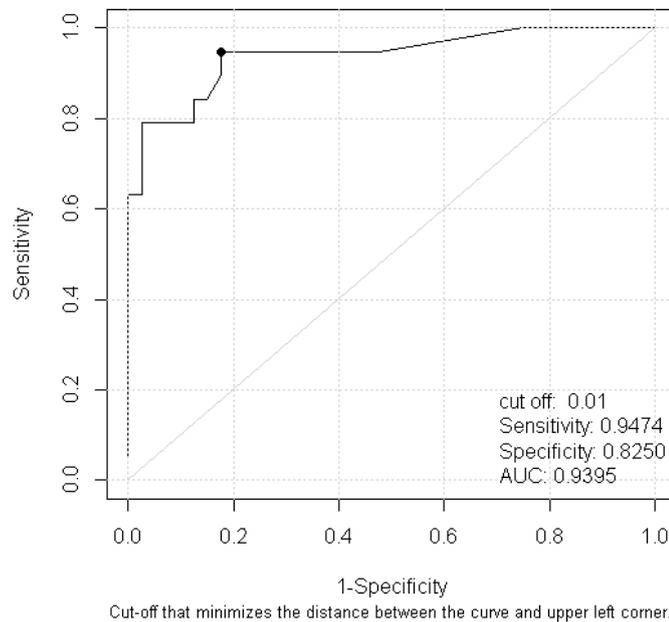


Figure 3 : Courbe ROC pour l'antigène ESAT-6 en Côte-d'Or

Le cut-off optimal pour l'antigène ESAT étudié en Côte-d'Or correspondait à un pourcentage de DO (exprimé à l'aide de la formule normalisée) de 0,01.

L'aire sous la courbe (AUC) était de 0,9395 [0,8823 ; 0,9967]_{IC95%}. La sensibilité au seuil optimal était de 0,9474 [0,7536 ; 0,9906]_{IC95%} et la spécificité associée était de 0,8250 [0,6805 ; 0,9125]_{IC95%}.

2.3. Résultats obtenus en Dordogne

2.3.1. Sensibilité et spécificité des tests

- **Intradermotuberculation double comparative (IDC)**

La sensibilité individuelle de l'IDC a été estimée à partir des résultats individuels de 14 animaux infectés, à partir du 1er janvier 2008. Ces résultats correspondent donc aux campagnes 07/08, 08/09, 09/10, 10/11 et 11/12, dans une fenêtre chronologique correspondant à la date de l'APDI \pm 2 mois (correspondant à la notion de « foyer en cours » dans la suite du texte).

Sur chaque animal retenu, *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au Laboratoire National de Référence (LNR) Tuberculose (ANSES, Laboratoire de Santé Animale, Maisons-Alfort) après abattage diagnostique. Les résultats individuels de ces animaux sont présentés dans le Tableau 27.

Tableau 27 : Résultats d'IDC de 14 bovins infectés en Dordogne pour lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au LNR Tuberculose, à partir de la campagne 2007/2008

Résultat d'IDC	Nombre de bovins infectés
Positif	13
Douteux	1
Négatif	0
Total	14

La sensibilité individuelle brute de l'IDC était de 93% ([79% ; 100%], Intervalle de Confiance (IC) 95%). La sensibilité individuelle « UE » de l'IDC était de **100% compte tenu du faible effectif disponible pour le calcul.**

La sensibilité « troupeau » de l'IDC a été évaluée à partir des résultats «troupeaux» d'IDC des 17 cheptels dans lesquels *M. bovis* a été confirmé par le LNR, à partir du 1er janvier 2008, dans une fenêtre chronologique correspondant à la date de l'APDI \pm 2 mois (correspondant à la notion de « foyer en cours » dans la suite du texte). Les résultats «troupeaux» de ces cheptels sont présentés dans le Tableau 28.

Tableau 28 : Résultats «troupeaux» d'IDC dans 17 foyers "en cours" de Dordogne, à partir de la campagne 2007/2008

Résultat d'IDC	Nombre de troupeaux infectés
Positif	16
Douteux	1
Négatif	0
Total	17

La sensibilité « troupeau » brute de l'IDC était de 94% ([83% ; 100%]_{IC95%}). La sensibilité troupeau « UE » de l'IDC était de **100% compte tenu du faible effectif disponible pour le calcul.**

La spécificité de l'IDC a été estimée à l'aide des résultats de prophylaxie de cheptels indemnes situés en zone à bas risque épidémiologique de tuberculose, dans lesquels aucun foyer n'a été identifié entre 2000 et 2012 et n'ayant présenté ni lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose, ni risque épidémiologique vis-à-vis de cette maladie au cours de la période.

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

La spécificité individuelle de l'IDC a été estimée à partir de 20 résultats individuels aux tests pratiqués au cours de la première partie de la campagne de prophylaxie 2011-2012 ; Un animal a été tiré au sort par troupeau pour conserver l'indépendance des résultats aux tests. Les résultats d'IDC des bovins indemnes sont présentés dans le Tableau 29.

Remarque : Les résultats ont été interprétés sur la seule campagne 2011/2012. En effet, au cours des campagnes 09/10 et 10/11, les troupeaux ont fait l'objet d'une suspicion suite à l'observation de résultat d'IDS non négative, puis ont été testés par l'IFN.

Si le résultat d'IFN était divergent (avec un résultat positif en PPD), dans un contexte défavorable, un recontrôle IDC était réalisé. Si le résultat d'IFN était négatif, le cheptel était requalifié.

L'arbre décisionnel de la campagne 2011/2012 a réintroduit un test IDC suite à une IDS non négative et d'un IFN négatif.

Tableau 29 : Résultats d'IDC de 20 bovins indemnes de Dordogne au cours de la campagne 2011/2012

Résultats d'IDC	Campagne 2011-2012
	Nombre de bovins indemnes
Positif	1
Douteux	0
Négatif	19
Total	20

La **spécificité individuelle** moyenne de l'IDC était de **95%** ([85% ; 100%]_{IC95%}).

La spécificité « troupeau » de l'IDC a été estimée à partir des résultats obtenus en prophylaxie dans 20 troupeaux au cours de la première partie de la campagne 2011-2012.

Les résultats «troupeaux» d'IDC dans ces cheptels sont présentés dans le Tableau 30.

Tableau 30 : Résultats « troupeaux » d'IDC de 20 élevages indemnes de Dordogne au cours de la campagne 2011/2012

Résultats d'IDC	Campagne 2011-2012
	Nombre de troupeaux indemnes
Positif	1
Douteux	0
Négatif	19
Total	20

La **spécificité « troupeau »** moyenne de l'IDC était de **95%** ([85% ; 100%]_{IC95%}). Ce résultat est identique à la spécificité individuelle compte tenu du fait que pour le calcul de cette dernière un seul animal a été tiré au sort par troupeau.

- **IDS**

La sensibilité individuelle de l'IDS a été estimée à partir des résultats individuels de 18 animaux infectés à partir de la campagne 2007/2008, pour lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au LNR Tuberculose après abattage diagnostique. Certains résultats individuels d'IDS ont été déduits des résultats d'IDC grâce à une saisie séparée des réactions aux injections de tuberculine aviaire et bovine. Les résultats individuels de ces animaux sont présentés dans le tableau 31

Remarque : Le nombre de résultats disponibles individuellement est plus faible que le nombre de résultats collectifs en raison de la présence de résultats incomplets et d'individus infectés pour lesquels les résultats individuels n'étaient pas disponibles (découvertes fortuites d'abattoir notamment).

Pour certains résultats non négatifs, il n'a pas été précisé si ce résultat correspondait à un résultat positif ou douteux. La sensibilité brute (individuelle et collective) a alors été calculée après exclusion de ces résultats indéterminés « positif/douteux ». Ils ont en revanche été inclus dans le calcul de la sensibilité « UE ».

Tableau 31 : Résultats d'IDS de 18 bovins infectés en Dordogne pour lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé en culture au LNR Tuberculose à partir de la campagne 2007/2008

Résultat d'IDS	Nombre de bovins infectés
Positif	11
Positif/Douteux	6
Douteux	1
Négatif	0
Total	18

La sensibilité individuelle brute de l'IDS était de 92% ([76% ; 100%]_{IC95%}, n=12). **La sensibilité individuelle « UE » de l'IDS était de 100% compte tenu du faible effectif disponible pour le calcul.**

La sensibilité « troupeau » de l'IDS a été évaluée à partir des résultats «troupeaux» d'IDS de 21 cheptels infectés dans lesquels *M. bovis* a été confirmé par le LNR, dans une fenêtre chronologique correspondant à la date de l'APDI ± 2 mois (« foyer en cours »).

Les résultats «troupeaux» de ces cheptels sont présentés dans le Tableau 32.

Tableau 32 : Résultats «troupeaux» d'IDS dans 21 foyers "en cours" de Dordogne à partir de la campagne 2007/2008

Résultat d'IDS	Nombre de troupeaux infectés
Positif	13
Positif/Douteux	6
Douteux	1
Négatif	0
Total	20

La sensibilité troupeau brute de l'IDS était, de 93% ([79% ; 100%]_{IC95%}, n=14). **La sensibilité troupeau « UE » de l'IDS était de 100% compte tenu du faible effectif disponible pour le calcul.**

De même que précédemment, la spécificité de l'IDS a été estimée à l'aide des résultats de prophylaxie de cheptels indemnes situés en zone à bas risque épidémiologique de tuberculose, dans lesquels aucun foyer n'a été identifié depuis 2000 et n'ayant présenté ni lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose ni risque épidémiologique vis-à-vis de cette maladie.

La spécificité individuelle de l'IDS a été estimée à partir de :

- 36 252 tests au cours de la campagne de prophylaxie 2009-2010 ;
- 35 156 tests au cours de la campagne de prophylaxie 2010-2011 ;
- 741 tests au cours de la première partie de la campagne 2011-2012.

Les résultats ont été interprétés campagne par campagne afin de limiter le biais du au défaut d'indépendance des résultats : en effet, ces résultats étaient saisis collectivement et il était impossible d'identifier les animaux testés plusieurs fois au cours des trois années d'étude. Les résultats d'IDS des bovins indemnes sont présentés dans le Tableau 33.

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280,
2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Remarque : Les résultats compris dans la table étudiée ne permettent pas de distinguer un résultat douteux d'un résultat positif. Ces deux résultats sont considérés dans la base comme un résultat « non négatif ».

Tableau 33 : Résultats d'IDS de bovins indemnes de Dordogne au cours des trois campagnes étudiées

Résultats d'IDS	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011		Campagne 2011-2012	
	Nombre de bovins indemnes	%	Nombre de bovins indemnes	%	Nombre de bovins indemnes	%
Positif (non négatif)	53	0,15	112	0,32	2	0,27
Négatif	36 199	99,85	35 044	99,68	739	99,73
Total	36 252	100	35 156	100	741	100
Spécificité	99,85% [99,81%; 99,89%]		99,68% [99,62%; 99,74%]		99,73% [99,36%; 100%]	

La spécificité « troupeau » de l'IDS a été estimée à partir des résultats obtenus en prophylaxie dans :

- 934 troupeaux au cours de la campagne 2009-2010 ;
- 919 troupeaux au cours de la campagne 2010-2011 ;
- 33 troupeaux au cours de la première partie de la campagne 2011-2012.

Les résultats «troupeaux» d'IDS dans ces cheptels sont présentés dans le Tableau 34.

Tableau 34 : Résultats «troupeaux» d'IDS de 934 troupeaux indemnes de Dordogne au cours des trois campagnes étudiées

Résultats d'IDC	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011		Campagne 2011-2012	
	Nombre de troupeaux indemnes	%	Nombre de troupeaux indemnes	%	Nombre de troupeaux indemnes	%
Positif	19	2	49	53,3	1	3,03
Négatif	915	98	870	94,7	32	96,97
Total	934	100	919	100	33	100
Spécificité	97,97% [97,06%; 98,87%]		94,67% [93,22%; 96,12%]		96,97% [91,12%; 100%]	

- **Interféron gamma (IFN)**

Deux types d'antigènes étaient utilisés simultanément pour la réalisation du test de dosage de l'interféron gamma :

- Le kit Bovigam®
- Un cocktail d'antigènes recombinants (ESAT-6 et CFP-10).

Les résultats obtenus étaient interprétés de la manière suivante (Tableau 35).

Tableau 35 : Interprétation des résultats du dosage de l'interféron gamma en Dordogne

Bovigam®	Recombinant	Interprétation globale
Positif	Positif	Positif
Positif	Négatif	Divergent PPD+
Négatif	Positif	Divergent Recombinant+

Les seuils d'interprétation de ces tests ont été modifiés au début de la campagne 09/10 puis ont été abaissés par la suite en début de campagne 11/12.

Avis de l'Anses

Saisine n°2012-SA-0011, saisines liées : 2009-SA-0280, 2008-SA-0263, 2008-SA-0167, 2007-SA-0351

Un faible nombre de résultats IFN étaient disponibles pour la campagne 2011-2012. En raison du récent changement de seuil, ces résultats n'ont pas pu être agrégés à ceux des campagnes précédentes. Ils ont donc été exclus de cette étude.

La sensibilité individuelle des tests de dosage d'IFN a été évaluée à partir des résultats de 13 bovins (provenant de 13 troupeaux foyers) pour lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé par le LNR Tuberculose.

Le détail des résultats individuels croisés de ces animaux est présenté dans le tableau 36. Le récapitulatif des résultats aux tests Bovigam®, Recombinant et l'interprétation globale sont présentés respectivement dans les tableaux 37, 38 et 39.

Remarque : Le nombre de résultats disponibles individuellement est plus faible que le nombre de résultats collectifs en raison de la présence de résultats incomplets et d'individus infectés pour lesquels les résultats individuels n'étaient pas disponibles (découvertes fortuites d'abattoir notamment).

Tableau 36 : Résultats individuels croisés de 13 bovins infectés en Dordogne sur lesquels *Mycobacterium bovis* a été confirmé au LNR Tuberculose au cours des campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Bovigam®	Recombinant	IFN	Nombre de bovins infectés
			Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	Positif	Positif	12
Positif	Négatif	Divergent	0
Négatif	Positif	Divergent	1
Négatif	Négatif	Négatif	0
TOTAL			13

Tableau 37 : Récapitulatif des résultats de Bovigam® chez 13 animaux de Dordogne sur lesquels *M. bovis* a été confirmé au laboratoire au cours des campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Résultat de Bovigam®	Nombre de bovins infectés
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	12
Négatif	1
Total	13

La sensibilité individuelle du kit Bovigam® était de **92%** ([78% ; 100%]_{IC 95%}).

Tableau 38 : Récapitulatif des résultats de Recombinant chez 13 animaux de Dordogne sur lesquels *M. bovis* a été confirmé au laboratoire au cours des campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Résultat de Recombinant	Nombre de bovins infectés
	Campagne 2009/2010 et 2010/2011
Positif	13
Négatif	0
Total	13

Compte tenu de l'effectif faible, la sensibilité individuelle du test Recombinant était de **100%**.

Tableau 39 : Récapitulatif des résultats d'IFN gamma global chez 13 animaux de Dordogne sur lesquels *M. bovis* a été confirmé au laboratoire au cours des campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Résultat d'IFN global	Nombre de bovins infectés
	Campagne 2009/2010 et 2010/2011
Positif	12
Divergent	1
Négatif	0
Total	13

La sensibilité individuelle brute de l'IFN global était de 92% [78% ; 100%]_{IC 95%}). **La sensibilité individuelle « UE » de l'IFN global était de 100% compte tenu du faible effectif pour le calcul.**

La sensibilité « troupeau » des tests de dosage d'IFN a été évaluée à partir des résultats de 16 troupeaux infectés dans lesquels *M. bovis* a été confirmé au LNR Tuberculose (Tableau 40). Le récapitulatif des résultats aux tests Bovigam®, Recombinant et l'interprétation globale sont présentés respectivement dans les tableaux 41, 42 et 43.

Tableau 40 : Résultats «troupeaux» croisés de 16 troupeaux infectés en Dordogne au cours des campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Bovigam®	Recombinant	IFN global	Nombre de troupeaux infectés
			Campagne 2009/2010 et 2010/2011
Positif	Positif	Positif	13
Positif	Négatif	Divergent	0
Négatif	Positif	Divergent	1
Négatif	Négatif	Négatif	0
TOTAL			16

Un cheptel dont l'infection a été découverte à l'abattoir en dehors de délais choisis pour période a été retiré pour le calcul de la sensibilité. Les deux autres cheptels divergents n'ont pas de résultat d'IFN pour les bovins infectés.

Tableau 41 : Récapitulatif des résultats « troupeaux » de Bovigam® de 16 troupeaux infectés en Dordogne pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Résultat de Bovigam®	Nombre de troupeaux infectés
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	15
Négatif	1
Total	16

La sensibilité « troupeau » du kit Bovigam® était de 94% [82% ; 100%]_{IC 95%}.

Tableau 42 : Récapitulatif des résultats «troupeaux» de Recombinant de 16 troupeaux infectés en Dordogne pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Résultat Recombinant	Nombre de troupeaux infectés
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	16
Négatif	0
Total	16

La sensibilité « troupeau » du test Recombinant était de 100% compte tenu du faible effectif pour le calcul.

Tableau 43 : Récapitulatif des résultats «troupeaux» d'IFN global de 16 troupeaux infectés en Dordogne pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Résultat d'IFN global	Nombre de troupeaux infectés
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	13
Divergent	3
Négatif	0
Total	16

La sensibilité « troupeau » brute de l'IFN gamma global était de 81% [62% ; 100%] IC 95%. La sensibilité troupeau « UE » de l'IFN global était de 100% compte tenu du faible effectif pour le calcul.

La spécificité individuelle du dosage de l'interféron gamma a été estimée à partir des résultats individuels de bovins indemnes situés en dehors de la zone à risque, dans lesquels aucun foyer n'a été identifié depuis 2000, n'ayant pas été en lien épidémiologique avec un foyer de tuberculose bovine et ne présentant pas de risque sanitaire particulier vis-à-vis de la tuberculose bovine. Un animal a été tiré au sort par troupeau pour conserver l'indépendance de l'estimation.

Le détail des résultats individuels croisés de ces animaux est présenté dans le tableau 44.

Le récapitulatif des résultats aux tests Bovigam®, Recombinant et leur interprétation globale sont présentés respectivement dans les tableaux 45, 46 et 47.

Remarque : Etant donné les conditions d'utilisation de l'IFN en Dordogne, tous ces troupeaux ont fait l'objet d'une suspicion suite à l'observation de résultats non négatifs en IDS. Les spécificités estimées sont donc conditionnelles à l'existence de réactions non négatives à l'IDS dans le même troupeau. Cette approche engendre probablement un biais, mais aucun résultat de dosage d'interféron gamma n'était disponible dans les troupeaux n'ayant pas été placés sous suspicion.

Tableau 44 : Résultats individuels croisés de 66 bovins indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultats d'IFN		Nombre de bovins indemnes Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Bovigam®	Recombinant	
Positif	Positif	2
Négatif	Positif	7
Positif	Négatif	5
Négatif	Négatif	52
Total		66

Tableau 45 : Récapitulatif des résultats de Bovigam® chez 66 bovins indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultat de Bovigam®	Nombre de bovins indemnes
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	7
Négatif	59
Total	66

La spécificité individuelle du kit Bovigam® était de **89%** [82% ; 97%]_{IC 95%} pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011.

Tableau 46 : Récapitulatif des résultats de Recombinant chez 66 bovins indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultat Recombinant	Nombre de bovins indemnes
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	9
Négatif	57
Total	66

La spécificité individuelle du test Recombinant était de **86%** [78% ; 95%]_{IC 95%} pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011.

Tableau 47 : Récapitulatif des résultats d'IFN global chez 66 bovins indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultat Global	Nombre de bovins indemnes
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	2
Divergent	12
Négatif	52
Total	66

La spécificité individuelle de l'IFN gamma global était de **79%** [69% ; 89%]_{IC 95%} pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011.

La spécificité « troupeau » de l'IFN gamma a été estimée sur les troupeaux décrits ci-dessus. Le récapitulatif des résultats «troupeaux» aux tests Bovigam®, ESAT-6 et leur interprétation globale sont présentés dans les tableaux 48, 49, 50 et 51 .

Tableau 48 : Résultats d'Interféron gamma dans 66 troupeaux indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultats d'IFN		Nombre de troupeaux indemnes
Bovigam®	Recombinant	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	Positif	2
Négatif	Positif	9
Positif	Négatif	7
Négatif	Négatif	48
Total		66

Tableau 49 : Récapitulatif des résultats de Bovigam® dans 66 troupeaux indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultat de Bovigam®	Nombre de troupeaux indemnes
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	9
Négatif	57
Total	66

La spécificité « troupeau » du kit Bovigam® était de 86% [78% ; 95%]_{IC95%} pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011.

Tableau 50 : Récapitulatif des résultats de Recombinant dans 66 troupeaux indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultat d'ESAT 6	Nombre de troupeaux indemnes
	Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif	11
Négatif	55
Total	66

La spécificité troupeau du test Recombinant était de 84% [74% ; 92%]_{IC95%} pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011

Tableau 51 : Récapitulatif des résultats d'IFN gamma global dans 66 troupeaux indemnes en Dordogne pour les campagnes 09/10 et 10/11

Résultat Global	IFN	Nombre de troupeaux indemnes
		Campagnes 2009/2010 et 2010/2011
Positif		2
Divergent		16
Négatif		48
Total		66

La spécificité « troupeau » de l'IFN global était de 73% [62% ; 83%]_{IC95%} pour les campagnes 2009/2010 et 2010/2011

- Tableaux récapitulatifs des résultats

Les résultats de sensibilité et de spécificité obtenus sont récapitulés dans les tableaux 52 et 53.

Tableau 52 : Récapitulatif des résultats de sensibilité IFN conditionnels à l'obtention d'une IDS non négative en Dordogne

TEST	Sensibilité individuelle (Se _i)			Sensibilité « troupeau » (Se _T)		
	n	Se _i Brute	Se _i UE	n'	Se _T Brute	Se _T UE
IFN	Bovigam®	13	92% [78% ; 100%]		12	94% [82% ; 100%]
	Recombinants	13	100%		12	100%
	Global	13	92% [78% ; 100%]	100%	13	81% ¹ [62% ; 100%]

¹La sensibilité troupeaux est plus faible que la sensibilité individuelle, en raison des résultats divergents de 2 troupeaux infectés dans lesquels aucun résultat d'IFN n'est disponible pour le bovin infecté. Il s'agit d'une découverte fortuite en abattoir pour le premier troupeau et d'une découverte au cours de l'abattage total pour le second troupeau.

Tableau 53 : Résultats de spécificité IFN conditionnels à l'obtention d'une IDS non négative en Dordogne

TEST	Spécificité individuelle (Sp _i)		Spécificité « troupeau » (Sp _T)		
	n	Sp _i	n'	Sp _T	
IFN	Bovigam®	66	89% [82% ; 97%]	66	86% [78% ; 95%]
	Recombinant	66	86% [78% ; 95%]	66	84% [74% ; 92%]
	Global	66	79% [69% ; 89%]	66	73% [62% ; 83%]

2.4. Résultats obtenus en Camargue

2.4.1. Sensibilité et spécificité du kit Bovigam®

La sensibilité individuelle du test Bovigam® a été estimée sur 21 animaux infectés (provenant de 21 troupeaux infectés) pour lesquels l'isolement de *Mycobacterium bovis* a été confirmé au LNR tuberculose (ANSES, Laboratoire de Santé Animale, Maisons-Alfort) et sa sensibilité « troupeau », sur 21 foyers « en cours » dans lesquels l'isolement de *M. bovis* a été confirmé par le LNR Tuberculose (soit 1 457 bovins). Afin de préserver l'indépendance des individus, lorsqu'un troupeau comportait plusieurs animaux infectés, un seul animal a été tiré au sort par troupeau.

Les spécificités individuelle et collective du test Bovigam® ont été estimées sur 9 606 animaux provenant de 179 troupeaux indemnes de tuberculose bovine, dans lesquels aucun foyer de cette maladie n'a été identifié au cours des trois années d'étude, et n'ayant pas été en lien épidémiologique avec un foyer au cours de cette même période.

Les résultats obtenus à l'échelle individuelle d'une part et à l'échelle troupeau d'autre part sont présentés respectivement dans les tableaux 54 et 55.

Tableau 54 : Résultats individuels du test Bovigam® dans une population de 21 bovins infectés et 9 606 bovins provenant d'élevages indemnes en Camargue

Résultats du test Bovigam®	Nombre de bovins infectés	Nombre de bovins indemnes
Positifs	17	26
Douteux	4	146
Négatifs	0	9 434
Total	21	9 606

La sensibilité individuelle du test Bovigam® a été estimée à 81 % ([64% ; 98%] ; IC 95%) en considérant les résultats douteux comme négatifs. Dans les conditions d'interprétation utilisées sur le terrain (*i.e.* résultats douteux considérés comme positifs), la sensibilité individuelle du Bovigam® était de **100%**.

La spécificité individuelle du Bovigam® était de **98,21%** ([97,94% ; 98,47%] ; IC 95%).

Tableau 55 : Résultats collectifs du test Bovigam® dans une population de 21 foyers en cours et 179 troupeaux indemnes en Camargue

Résultats du test Bovigam®	Nombre de foyers	Nombre de troupeaux indemnes
Positifs	18	19
Douteux	3	51
Négatifs	0	109
Total	21	179

La sensibilité « troupeau » du test Bovigam® a été estimée à 86 % ([71% ; 100%] ; IC 95%) en considérant les résultats douteux comme négatifs. Dans les conditions d'interprétation utilisées sur le terrain (*i.e.* résultats douteux considérés comme positifs), la sensibilité « troupeau » du Bovigam® était de **100%**.

La spécificité « troupeau » du test Bovigam® était de **60,89%** ([53,75% ; 68,04%] ; IC 95%).

Les résultats de sensibilité et de spécificité obtenus sont récapitulés dans les tableaux 56 et 57, respectivement.

Tableau 56 : Résultats de sensibilité obtenus en Camargue

TEST	Sensibilité individuelle (Se_i)			Sensibilité « troupeau » (Se_T)		
	n	Se_i Brute	Se_i UE	n'	Se_T Brute	Se_T UE
Kit Bovigam®	21	81 % [64% ; 98%]	100%	17	86 % [71% ; 100%]	100 %

Tableau 57 : Résultats de spécificité obtenus en Camargue

TEST	Spécificité individuelle (Sp_i)		Spécificité « troupeau » (Sp_T)		
	n	Sp_i	n'	Sp_T	
Kit Bovigam®	9 606	98,21% [97,94% ; 98,47%]	179	60,89% 68,04%]	[53,75% ;

2.4.2. Etude des seuils de positivité du kit Bovigam® en Camargue

La courbe ROC a été construite à l'aide des résultats de 31 bovins infectés et 73 bovins indemnes. (Figure 4).

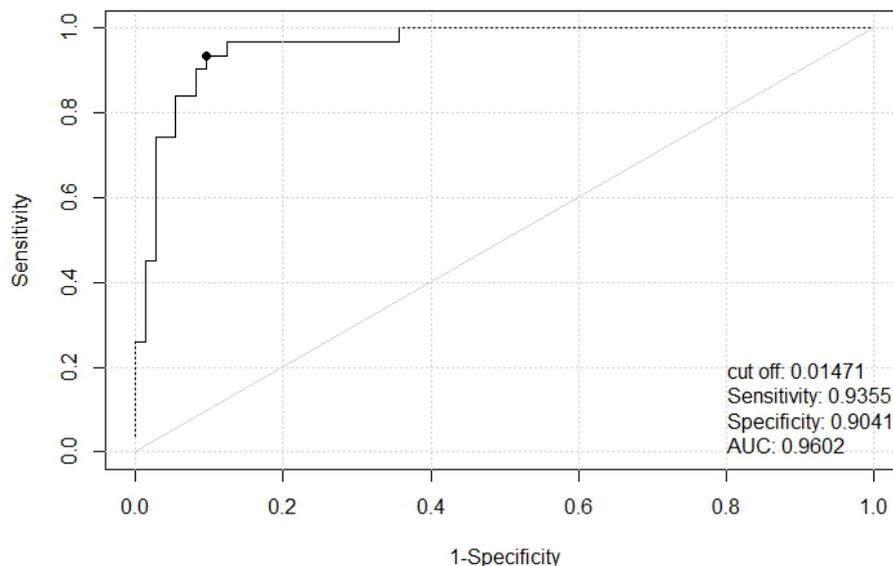


Figure 4 : Courbe ROC pour le test Bovigam® en Camargue

Le cut-off optimal pour le kit Bovigam® étudié en Camargue correspondait à un % de DO de 0,015. L'aire sous la courbe (AUC) était de 0,9602 [0,9249 ; 0,9955]_{IC 95%}. La sensibilité au seuil optimal était de 0,9355 [0,7928 ; 0,9821]_{IC 95%} et la spécificité associée était de 0,9041 [0,8150 ; 0,9528]_{IC 95%}.

3. Etude de la sensibilité des tests associés en série : comparaison de l'arbre décisionnel appliqué en Côte-d'Or et en Dordogne et du protocole prévu par la réglementation européenne

3.1.Méthode

Un autre volet de cette étude consistait en l'estimation du risque d'erreur par défaut (*i.e.* risque de non détection d'un animal infecté de tuberculose) engendré par l'application du protocole utilisant l'IFN (après une IDS ou une IDC non négative) entre 2009 et 2012 comparé au risque d'erreur par défaut engendré par l'application de la directive européenne CE/64/432.

Le protocole utilisé en Côte-d'Or prévoyait la réalisation d'un dosage de l'IFN chez les animaux ayant présenté des résultats non négatifs en IDC. Le protocole utilisé en Dordogne prévoyait la réalisation d'un dosage de l'IFN chez les animaux ayant présenté des résultats non négatifs en IDS.

La directive CE/64/432 recommandait l'utilisation exclusive de l'intradermotuberculation avec réalisation d'une IDC ultérieure (6 semaines plus tard) sur les animaux ayant présenté des résultats non négatifs en IDS. Nous avons considéré que ces trois protocoles correspondaient à l'utilisation des tests en série (règle d'interprétation « ET »).

Les tests étudiés (IDS, IDC et dosage de l'IFN gamma) sont fondés sur le même principe biologique (*i.e.* la détection d'une réaction allergique). Ils sont par conséquent considérés comme non indépendants (Enøe *et al.*, 2000).

Les sensibilités (Se) des associations en série et en parallèle de tests dépendants en fonction de la covariance de leurs sensibilités sont définies dans le tableau 58.

Tableau 58 : Sensibilité de deux tests dépendants conditionnellement associés en série ou en parallèle

Type d'association	Sensibilité
En série (règle d'interprétation « ET »)	$Se_2 * Se_1 + covSe$
En parallèle (règle d'interprétation « OU »)	$1 - ((1 - Se_2) * (1 - Se_1)) - covSe$

Avec : Se1 : sensibilité du test 1 ; Se2 : sensibilité du test 2 et covSe : covariance des sensibilités des tests 1 et 2.

Le risque d'erreur par défaut de ces associations est défini comme suit : $\beta = 1 - Se$

L'estimation des sensibilités de l'IDC, de l'IDS et du dosage de l'IFN gamma ainsi que des covariances de leurs sensibilités a été réalisée par une approche bayésienne dans une population de bovins comparable à celle dans laquelle les tests sont utilisés sur le terrain soit 2 879 animaux de Côte-d'Or et 1 500 animaux de Dordogne, pour lesquels on disposait de résultats croisés à deux ou trois de ces tests. (Rappel : les populations d'animaux et de troupeaux pour lesquelles les tests ont été évalués de manière directe dans la première partie du rapport ont été choisies conditionnellement à leur statut vis-à-vis de l'infection).

Le modèle choisi pour l'estimation des caractéristiques des tests de dépistage de la tuberculose bovine a été utilisé plusieurs fois dans la littérature (Gardner *et al.*, 2000 ; Dendukuri *et al.*, 2001 ; Georgiadis *et al.*, 2003 ; Branscum *et al.*, 2005).

L'implémentation du modèle a été réalisée par des algorithmes MCMC (Markov Chain Monte Carlo) utilisant l'échantillonneur de Gibbs. Les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel WinBUGS (Lunn *et al.*, 2000). 50 000 itérations ont été effectuées (dont une phase de « burn-in » de 1000 itérations). Une analyse de sensibilité a également été réalisée en utilisant des distributions *a priori* de plus en plus diffuses afin de vérifier que l'estimation des paramètres d'intérêt n'était influencée que de manière mineure par ces variations.

Dans la population étudiée en Côte-d'Or qui comprenait 2 879 animaux, le nombre d'animaux présentant des résultats positifs en culture, au laboratoire vétérinaire départemental ou au LNR Tuberculose, était de 41. Le nombre de bovins présentant des résultats positifs en PCR mais négatifs en culture était de 16. On peut donc considérer que la prévalence minimale dans l'échantillon étudié était de 0,1% (41 bovins / 2 879) et que sa valeur la plus hautement probable était proche de 0,2% (57 bovins / 2 879).

Dans la population étudiée en Dordogne, le nombre d'animaux présentant des résultats positifs en culture au LNR était de 12, soit une prévalence minimale 0,08%. Les résultats en PCR n'étaient pas disponibles pour ces animaux. Par approximation, la distribution *a priori* utilisée était donc identique à la distribution utilisée pour la Côte-d'Or.

Les tests utilisés avaient déjà fait l'objet de plusieurs études publiées dans la littérature, récapitulées par De la Rua-Domenech *et al.* (2006). D'après ces études, la sensibilité de l'IDS était comprise entre 63,2% et 100%, avec une valeur médiane de 83,9%. La valeur médiane de sensibilité de l'IDC était estimée à 80,0% (valeur minimale : 52,0% ; valeur maximale : 100%). Enfin, la valeur médiane de sensibilité du dosage de l'IFN gamma était de 87,6% (valeur minimale : 73,0% ; valeur maximale : 100%). Aucune information sur la covariance des tests n'était disponible.

Compte tenu de ces informations, les paramètres a et b des distributions *a priori* des sensibilités des tests, de leurs covariances ainsi que de la prévalence dans l'échantillon ont été déterminés et sont présentés dans le tableau 59.

Tableau 59 : Paramètres des distributions beta (a,b) a priori

Paramètre	Médiane	Limite inférieure (95%)	Paramètres des distributions beta (a,b)	
			a	b
Sensibilité de l'IDS	83,9%	63,2%	9,4	1,79
Sensibilité de l'IDC	80,0%	52,0%	5,73	1,43
Sensibilité de l'IFN	87,6%	73,0%	21,11	2,88
Prévalence	0,2%	0,1%	15,66	767,34
γ Se IDS / IDC	Inconnue	Inconnue	1	1
γ Se IDS / IFN	Inconnue	Inconnue	1	1
γ Se IDC / IFN	Inconnue	Inconnue	1	1

Les paramètres estimés ont ensuite été utilisés pour calculer la sensibilité des séquences de tests appliquées en Côte-d'Or et en Dordogne, d'une part, et recommandées par la réglementation européenne d'autre part.

3.2. Résultats en Côte d'Or

Les estimations de sensibilité individuelle de l'IDS, de l'IDC et de l'IFN « global » et la covariance des sensibilités de chaque paire de tests en Côte-d'Or sont présentées dans le tableau 60.

Remarque : Dans une première approche, il a été considéré que les bovins présentant des résultats douteux ou positifs étaient soumis à un second test. En réalité, dans le protocole appliqué en Côte-d'Or, les animaux présentant des résultats positifs (ou grands douteux, durant les campagnes 2009/2010 et 2010/2011) sont soumis à un abattage diagnostique. **Cette première approche surestime donc le risque d'erreur par défaut du protocole Côte-d'Or par rapport à sa valeur réelle.**

Tableau 60 : Estimation des sensibilités de l'IDS, de l'IDC et de l'IFN et de leurs covariances par une approche bayésienne dans le département de la Côte d'Or

	Moyenne	Bornes de l'intervalle de crédibilité à 95%	
IDC	0,805	0,484	0,985
IDS	0,845	0,602	0,982
IFN	0,916	0,802	0,983
γ^* Se IDC et IDS	0,025	-0,048	0,122
γ Se IDC et IFN	0,019	-0,026	0,082
γ Se IDS et IFN	0,022	-0,017	0,087

* γ Se : Covariance des sensibilités

La sensibilité et le risque d'erreur par défaut de chaque protocole (séquence de tests utilisée en Côte-d'Or vs. séquence de tests recommandée par la réglementation européenne) ont été déduits des résultats présentés ci-dessus. Les résultats sont présentés dans le tableau 61.

Tableau 61 : Sensibilités et risques d'erreur par défaut comparées des deux schémas décisionnels étudiés dans le département de la Côte-d'Or

Protocole	Sensibilité	Risque d'erreur par défaut
Côte-d'Or (IDC – IFN)	75,6% (36,2% ; 100%] _{IC95%}	24,4% [0% ; 63,8%]
UE (IDS – IDC)	70,4% [24,3% ; 100%]	29,6% [0,0% ; 76,8%]

Dans le cas du protocole utilisé en Côte-d'Or (IDC et IFN associés en série), la sensibilité de cette association était de 75,6% [36,2% ; 100%]_{IC95%} et la **probabilité d'erreur de détection par défaut était de 24,4% [0% ; 63,8%]_{IC95%}.**

Dans le cas du protocole prévu par la directive CE/64/432 (IDS et IDC associées en série), la sensibilité de cette association aurait été de 70,4% [24,3% ; 100%]_{IC95%} et la **probabilité d'erreur par défaut de 29,6% [0,0% ; 76,8%]_{IC95%}.**

3.3. Résultats en Dordogne

Les estimations de sensibilité individuelle de l'IDS et de l'IFN « global » et la covariance des sensibilités des tests, réalisées à partir des résultats croisés disponibles en Dordogne sont présentées dans le tableau 62.

Tableau 62 : Estimation des sensibilités de l'IDS et de l'IFN gamma et de leur covariance par une approche bayésienne : étude en Dordogne

Paramètre	Moyenne	Bornes de l'intervalle de crédibilité à 95%	
Se IDS	0,933	0,836	0,987
Se IFN	0,841	0,589	0,982
γ^* Se IDS et IFN	0,019	-0,014	0,073

* γ Se : Covariance des sensibilités

La sensibilité et le risque d'erreur par défaut du protocole appliqué en Dordogne (IDS et IFN gamma associés en série) ont été déduits des estimations ci-dessus. La sensibilité de l'association en série de l'IDS et de l'IFN était de 72,2% [53,6% ; 100,0%]_{IC95%}. **La probabilité d'erreur de détection par défaut était de 27,8% [0,0% ; 46,4%]_{IC95%}.**

4. Evaluation des arbres décisionnels

4.1. En Côte-d'Or

4.1.1 Présentation de l'arbre décisionnel

Comme expliqué précédemment, les élevages ayant présenté un résultat négatif à l'IDC réalisée dans le cadre de la prophylaxie annuelle voient leur qualification indemne maintenue. Pour les autres, l'arbre décisionnel utilisé (Annexe A) est relativement complexe : le commentaire ci-dessous vise à en souligner les aspects essentiels, tout particulièrement les différentes possibilités de levée de la suspension de qualification qui sont dénommées dans la suite de ce rapport « sortie » et numérotées de 1 à 6.

En cas de résultat positif à l'IDC dans un troupeau, les animaux correspondants sont abattus (abattage diagnostique, AbD). En cas de résultats négatifs à cet abattage diagnostique (pas de lésion, PCR négative), un contrôle tuberculique (« R2 ») est pratiqué au moins 42 jours après l'IDC : le cumul de ces résultats favorables constitue la sortie 6. En cas de résultat positif (Lésion confirmée par histologie, et/ou PCR+), le cheptel est déclaré infecté. Cet itinéraire est conforme à la procédure I.3A.b de l'Annexe A de la directive CE/64/432.

En cas de résultat douteux à l'IDC dans un troupeau, l'importance de la réaction d'IDC et le contexte épidémiologique sont pris en considération :

- si la réaction à la tuberculine bovine est comprise entre 2 et 4 mm, les douteux sont qualifiés de « petits douteux » (dtx),
- si la réaction à la tuberculine bovine excède 4 mm, les résultats sont qualifiés de « grands douteux » (DTX).

Le contexte épidémiologique est considéré comme favorable (ou non), en fonction de la présence (ou de l'absence) de facteurs de risque de tuberculose avérés dans la zone ou en lien épidémiologique avec le troupeau.

Selon leur contexte épidémiologique, les troupeaux ayant présenté des résultats « douteux » sont soumis à un dosage de l'interféron gamma, ou à une combinaison de limitations de mouvements, abattage diagnostique et recontrôles.

Sur l'arbre décisionnel (Annexe A) :

- la sortie 1 correspond à une levée de la suspension de qualification indemne de cheptels IDC dtx, dans un contexte épidémiologique favorable, sans emploi d'aucun autre moyen (pas de test complémentaire dans ce cas) ;
- La sortie 2 correspond à des cheptels IDC douteuse puis ayant obtenu un résultat négatif au test IFN réalisé ;
- La sortie 3 correspond aux cheptels IDC douteuse, ayant obtenu un résultat divergeant à l'IFN, soumis 6 semaines plus tard à un nouveau contrôle tuberculitique (R1) dont les résultats sont négatifs ;
- La sortie 4 correspond aux cheptels à résultats douteux en IDC, ayant subi un abattage diagnostique dont le résultat s'est avéré négatif (quel que soit le chemin de l'arbre décisionnel y ayant abouti) ;
- La sortie 5 correspond à une sophistication du cas précédent par adjonction d'une IDC.

Seules les sorties 1 et 2 ne sont pas conformes à la directive CE/64/432. Les autres sorties respectent l'une ou l'autre des conditions de l'Annexe A : l.1.3A.d pour les sorties 3 et 5 ; l.1.3A.c pour la sortie 4.

4.1.2 Etude du devenir des cheptels dont la suspension de qualification indemne a été levée grâce à l'arbre décisionnel

- **Les données sources**

Les données proviennent de la base Access utilisée par la DDPP21 pour la gestion de la lutte contre la tuberculose bovine dans le département depuis 2009. Deux campagnes ont pu être étudiées en totalité (2009-2010 et 2010-2011), et la dernière partiellement (données disponibles jusqu'à janvier 2012).

- **Méthode**

Le principe a été celui d'une approche purement descriptive, dans un premier temps en dénombrant les élevages dont la suspension de qualification indemne de tuberculose avait été levée par l'une des « sorties » de l'arbre décisionnel (*cf. supra*), puis de dénombrer ceux d'entre eux qui ont été reconnus infectés de tuberculose au cours de la campagne suivante. Dans un deuxième temps, les résultats des sorties 1 et 2, pouvant être considérées comme « hors réglementation » (selon la Directive CE/64/432) ont été comparés à la référence que constituent soit le maintien de la qualification indemne obtenue par un résultat négatif à l'IDC, soit le recours à l'une ou l'autre des procédures conformes à la Directive citée (sorties 3 à 6) permettant de lever la suspension de qualification indemne de tuberculose.

- **Résultats**

Données brutes

Les données des deux campagnes étudiées pour l'évaluation sont reportées dans le tableau 63 : pour chaque campagne figure le nombre de cheptels dont la suspension de qualification a été levée à l'année n selon les différentes modalités prévues par l'arbre décisionnel et le nombre d'élevages correspondants reconnus infectés l'année suivante (année n+1) ainsi que le rapport du nombre d'élevages infectés détectés à la campagne suivante par rapport à la population concernée par la sortie correspondante (pourcentage d'incidence), le résultat de la comparaison statistique avec la référence (élevages qualifiés par IDC-) et la valeur du ratio de ce rapport pour chaque sortie à celui de la référence, avec un intervalle de confiance à 95%.

Tableau 63. Récapitulation du devenir des cheptels dont la suspension de qualification a été levée (SQL) en Côte-d'Or au cours des campagnes en fonction des sorties du processus décisionnel (Données : DDPP21)

	Cheptels 2009-2010			Cheptels 2010-2011		
	SQL	Nb Inf	RPI [IC 95%]	SQL	Nb Inf*	RPI [IC 95%]
IDC (-) **	1 098	12	1	878	1	1
①	13	1	7,0 [1,0 ; 50,2] S f	41	1	21,4 [1,4 ; 336] NS f
②	309	6	1,8 [0,7 ; 4,7] NS	507	4	6,9 [0,8 ; 61,8] NS f
③	26	0	0.00	38	0	0.00
④	118	0	0.00	230	2	7,6 [0,7 ; 83,8] NS f
⑤	80	1	1,1 [0,2 ; 8,7] NS f	115	1	7,6 [0,5 ; 121] NS f
⑥	28	1	3,3 [0,4 ; 24,3] NS f	15	1	58 [3,8 ; 892,5] S f

* Données au 23 janvier 2012; RPI = Rapport de pourcentage d'incidence par rapport à la référence (IDC-); **Population de référence qualifiée indemne IDC(-); IC 95%= Intervalle de confiance à 95%; f Test exact de Fisher; S : écart significatif; NS : écart non significatif.

① = IDC dtx en contexte épidémiologique favorable

② = IDC dtx contexte épidémiologique défavorable ou DTX contexte épidémiologique favorable suivie d'un test INFy (-)

③ = IDC dtx en contexte épidémiologique défavorable ou DTX en contexte épidémiologique favorable suivie d'un test INFy (DIV) et d'un R1 favorable

④ = IDC dtx en contexte épidémiologique défavorable ou DTX en contexte épidémiologique favorable suivie d'un test INFy(DIV) ou (+) puis une limitation de mouvements et d'un Ad sans présence de lésions et un résultat négatif au test PCR

⑤ = DTX en contexte épidémiologique défavorable suivie d'une limitation de mouvements et d'un Ad sans présence de lésions et un résultat négatif au test PCR puis d'un R1 favorable

⑥ = IDC(+) suivie d'un Ad sans présence de lésions et un résultat - au test PCR puis d'un R2 favorable

Le pourcentage d'élevages reconnus tuberculeux à l'année n+1 dans des cheptels requalifiés à l'année n a été reconnu significativement plus élevé pour les élevages dont la suspension de qualification a été levée par les sorties 1 et 6 respectivement pendant la campagne 2009-2010 et 2010-2011. En revanche, l'écart n'a pas été significatif pour les autres sorties (2, 3, 4 et 5). Toutefois, les données de la campagne 2011-2012 sont incomplètes, du fait de l'arrêt de leur collecte pour les besoins de cette étude au 23 janvier 2012 : en raison du faible nombre d'élevages reconnus tuberculeux, le test exact de Fisher a dû être utilisé pour plusieurs des observations.

Observation cumulée sur deux ans

Il est possible, pour les élevages de la campagne 2009-2010, de poursuivre l'observation sur le devenir des élevages au bout de deux ans (cf. tableau 64). Cette fois, la sortie 2 montre un écart significatif avec la référence. Pour la sortie 1, l'écart n'est pas significatif (test de Fisher), mais les effectifs d'élevages infectés sont très limités (un seul élevage infecté pour la sortie 1).

Tableau 64 : Récapitulation du devenir, au bout de deux ans, des cheptels dont la suspension de qualification a été levée (SQL) en Côte-d'Or au cours de la campagne 2009-2010, en fonction des sorties du processus décisionnel (Données : DDPP21)

	SQL	Infectés 2011	Infectés 2012*	Cumul infectés	RPI [IC 95%]
IDC (-)	1098	12	2	14	1
①	13	1	0	1	6,0 [0,85; 42,6] NS <i>f</i>
②	309	6	4	10	2,5 [1,1 ; 5,7] S
③	26	0	0	0	0.00
④	118	0	0	0	0.00
⑤	80	1	2	3	2.9 [0,86 ; 10] NS <i>f</i>
⑥	28	1	0	1	2,8 [0,4 ; 20,6] NS <i>f</i>

f Test exact de Fisher

Stratification selon le caractère réglementaire ou non des sorties de l'arbre décisionnel

Le regroupement des effectifs des sorties selon que celles-ci correspondent globalement à des procédures conformes ou non à la directive CE/64/432 a été effectué (cf. tableau 65).

Tableau 65 : Récapitulation du devenir des cheptels dont la suspension de qualification a été levée (SQL) en Côte-d'Or au cours des campagnes en fonction des sorties réglementaires ou non du processus décisionnel (Données : DDPP 21)

	Cheptels 2009-2010			Cheptels 2010-2011		
	SQL	Inf	RPI [IC 95%]	SQL	Inf	RPI [IC 95%]
Sorties non-réglementaires (NR) (1, 2)	210	7	2,8 [0,6 ;13,5] NS	360	5	0,94 [0,26 ;3,5] NS
Sorties réglementaires (R) (3, 4, 5, 6)	170	2	1	272	4	1

RPI = Rapport de pourcentage d'incidence par rapport à la référence (IDC-) ; IC 95% = Intervalle de confiance à 95% ; *f* Test exact de Fisher.

Aucune différence significative n'a été observée entre les deux regroupements des sorties réglementaires et non réglementaires.

Stratification par zone

Compte tenu de l'existence d'une zone à haut risque de tuberculose (« zone rouge ») et d'une zone à bas risque de tuberculose (« zone blanche »), la même analyse a été réalisée en stratifiant selon la zone, rouge (cf. Tableau 66) et blanche.

En zone rouge (cf. Tableau 66), pour les données de chacune des campagnes étudiées, l'écart entre la population de référence et les troupeaux requalifiés par l'utilisation de l'arbre décisionnel seule la sortie 6 montre un écart significatif pour les données de 2010-2011. Cependant les chiffres très faibles utilisés pour ces calculs doivent conduire à une interprétation prudente.

Tableau 66 : Récapitulation du devenir des cheptels dont la suspension de qualification indemne a été levée (SQL) en Côte-d'Or en zone rouge au cours des campagnes en fonction des sorties du processus décisionnel (Données : DDPP 21)

	Campagne 2009-2010 en zone rouge			Campagne 2010-2011 en zone rouge		
	SQL Nb	Infectés campagne suivant	RPI [IC 95%]	Nb	Infectés campagne suivant	<i>p f</i>
IDC (-) ***	416	12	1	245	0	
①	12	1	2,9 [0,4 ; 20,5] NS <i>f</i>	22	1	NS
②	198	6	1,1 [0,4 ; 2,8] NS	338	4	NS
③	10	0	0.00	16	0	
④	71	0	0.00	155	2	NS
⑤	73	1	0,5 [0,1 ; 3,6] NS <i>f</i>	93	1	NS
⑥	16	1	2,2 [0,3 ; 15,7] NS <i>f</i>	8	1	S

NS : non significatif ; *f* Test exact de Fisher

Toujours en zone rouge, les données de la campagne 2009-2010 cumulées sur deux ans (cf. Tableau 67) ne montrent aucun écart significatif quelle que soit la sortie avec la référence.

Tableau 67 : Récapitulation du devenir, au bout de deux ans, en Côte-d'Or, des cheptels en zone rouge dont la suspension de qualification a été levée (SQL) au cours de la campagne 2009-2010, en fonction des sorties du processus décisionnel (Données : DDPP21)

	SQL 2010	Infectés 2011	Infectés 2012*	Cumul infectés	RPI [IC 95%]
IDC (-)	416	12	2	14	1
①	12	1	0	1	2,5 [0,35 ; 17,3] NS <i>f</i>
②	198	6	4	10	1,5 [0,7 ; 3,3] NS <i>f</i>
③	10	0	0	0	0.00
④	71	0	0	0	0.00
⑤	73	1	2	3	1,2 [0,36 ; 4,14] NS <i>f</i>
⑥	16	1	0	1	1,9 [0,26 ; 13,3] NS <i>f</i>

f Test exact de Fisher

En zone blanche sur les deux campagnes étudiées, un seul élevage a été reconnu infecté à l'année n+1. Il appartenait à la population de référence (IDC négative à l'année n). La démarche précédente n'a par conséquent pas pu être appliquée.

• Bilan

La sortie 1 (non-conforme à la norme de l'Annexe A de la directive UE/64/432) et la sortie 6 ont montré un écart significatif par rapport à la référence (IDC-), dans le tableau 63 (données brutes des deux campagnes) : dans les deux cas, les effectifs des sorties sont limités (respectivement 13 et 15, apparaissent en gras dans le tableau 63), et le nombre d'élevages infectés est de 1. Cet écart n'est pas confirmé dans la suite de l'étude, suggérant l'instabilité de résultats obtenus avec de très de faibles effectifs d'animaux et d'élevages infectés de tuberculose : de ce fait, les effets de non indépendance des élevages, reliés entre eux par des liens permettant d'assurer la transmission de l'infection (relation de voisinage par exemple), liens qui eux-mêmes peuvent être d'une intensité variable géographiquement, altèrent la portée des résultats statistiques qui ne respectent pas la condition d'indépendance des observations, obtenue dans des conditions idéales par une sélection aléatoire.

La sortie 2 ne montre un écart significatif par rapport à la référence (IDC-) que sur le cumul de l'observation sur deux années (Tableau 64). Ces résultats n'apparaissent plus en stratifiant sur la zone (rouge) (Tableau 66) et en cumulant également les données sur deux ans (Tableau 67).

Dans plusieurs observations, un seul élevage a été reconnu infecté, accentuant encore le caractère instable des observations, en raison, notamment, du fait que les données de la deuxième année (campagne 2011-2012) n'étaient disponibles qu'en partie.

4.2. En Dordogne

4.2.1 Présentation de l'arbre décisionnel

L'arbre décisionnel utilisé en Dordogne est conditionné par les résultats au contrôle par IDS (Annexe B). Comme pour la Côte d'Or, les différentes branches de l'arbre décisionnel sont qualifiées de « sorties », mais sont identifiées par des lettres pour les distinguer de celles de l'arbre utilisé en Côte d'Or, étant donné les différences entre les arbres de ces départements.

Les élevages ayant fourni un résultat négatif à l'IDS voient leur qualification indemne maintenue.

- En cas de résultat non négatif à l'IDS, une prise de sang est effectuée, en vue de la réalisation du test IFN
Sortie A : Un résultat négatif à l'IFN permet le maintien de la qualification.

- En cas de résultat divergent et ppd+ à l'IFN, une expertise est réalisée par la DDCSPP, conduisant à l'interprétation des résultats de laboratoire et des informations épidémiologiques.

Sortie B : en cas d'expertise favorable, la qualification est maintenue.

Si l'expertise conduit à un résultat défavorable, la qualification est suspendue, l'animal suspect est à nouveau contrôlé par IFN 8 semaines plus tard, et les animaux éventuels du même troupeau à IFN négatif (et par conséquent ayant eu une IDS non négative) sont contrôlés également 8 semaines plus tard par IDC, ce qui conduit à trois sorties possibles compte tenu de la combinaison des animaux et des tests auxquels ils ont été soumis :

Sortie C1 : pour les élevages comportant des résultats négatifs d'IFN et IDC ;

Sortie C2 : pour les élevages comportant des résultats négatifs d'IDC seule (dans le cas d'un animal suspect ayant donné un premier résultat divergent à l'IFN et ayant été directement soumis à un abattage diagnostique, celui-ci ayant donné un résultat négatif) ;

Sortie C3 : cas d'un élevage où un seul animal comportait un résultat INF divergent soumis à un nouveau contrôle IFN, et ayant donné un résultat négatif.

Si l'un ou l'autre des tests (IFN, IDC) réalisés sur l'indication de l'expertise défavorable conduit à un résultat positif, l'animal concerné (ou les animaux) est (sont) soumis à un abattage diagnostique.

Sortie D : des résultats négatifs de cet abattage diagnostique (absence de lésion et PCR négative, ou, en cas de lésion, histologie et PCR) peuvent conduire à une levée de la suspension de qualification.

Si l'abattage diagnostique conduit à des résultats positifs (histologie et/ou PCR), l'élevage est déclaré infecté.

4.2.2 Présentation du nombre d'élevages par « sortie » de l'arbre décisionnel

Au cours de la campagne 2009-2010, aucun des 110 élevages dont la suspension de qualification a été levée grâce à l'utilisation de l'arbre décisionnel n'a été reconnu infecté au cours de l'année suivante, et pour la campagne 2010-2011, seulement 4 élevages sur un total de 169 ont été par la suite trouvés infectés : en raison de la faiblesse des effectifs d'élevages infectés, il n'a pas été possible de réaliser d'analyse statistique raisonnablement interprétable et c'est pourquoi seules les données brutes sont présentées pour l'ensemble du département (Tableau 68) et pour la zone à risque (Tableau 69)

Tableau 68 : Récapitulation du devenir des cheptels dont la suspension de qualification a été levée (SQL) en Dordogne au cours des campagnes en fonction des sorties du processus décisionnel (Données : DDCSPP24)

	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011	
	SQL	Infectés campagne suivante	SQL	Infectés campagne suivante*
IDS (-) **	2250	11	1915	8
Sortie A	40	0	110	2
Sortie B	40	0	29	0
Sortie C1	4	0	0	0
Sortie C2	3	0	0	0
Sortie C3	13	0	15	2
Sortie D	10	0	15	0
total SQL	110		169	

Tableau 69 : Récapitulation du devenir des cheptels dont la suspension de qualification a été levée (SQL) en Dordogne dans la zone à risque au cours des campagnes en fonction des sorties du processus décisionnel (Données : DDCSPP24)

Branches RQ	Campagne 2009-2010		Campagne 2010-2011	
	Nb	Infectés campagne suivante	Nb	Infectés campagne suivante*
IDS (-)	1180	9	722	7
Sortie A	30	0	54	2
Sortie B	30	0	13	0
Sortie C1	4	0	0	0
Sortie C2	3	0	0	0
Sortie C3	5	0	13	2
Sortie D	9	0	7	0
total SQL	81		87	

Conclusion

Les résultats des travaux présentés dans ce document ont été élaborés en grande partie pour servir de base à une réflexion d'un groupe d'experts de l'Anses ; c'est la raison pour laquelle ce document ne comprend aucune interprétation ni discussion.

Références

- Branscum A.J., Gardner I.A., Johnson W.O., 2005. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. *Preventive Veterinary Medicine*, 68: 145-163.
- Brooks-Pollock E. Keeling M. 2009. Herd size and bovine tuberculosis persistence in cattle farms in Great Britain. *Prev. Vet. Med.*, **92**, 360–365.
- De la Rúa-Domenech R., Goodchild A.T, Vordermeier H.M., Hewinson R.G., Christiansen K.H., Clifton-Hadley R.S., 2006. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Research in Veterinary Science*, 83: 190-210.
- Dendukuri N., Joseph L., 2001. Bayesian approaches to modelling the conditional dependence between multiple diagnostic tests. *Biometrics*. 57: 158-167.
- Enøe C., Georgiadis M.P., Johnson W.O., 2000. Estimation of sensitivity and specificity of diagnostic tests and disease prevalence when the true disease is unknown. *Preventive Veterinary Medicine*, 45 : 61-81.
- Faye S., Boschioli M.L., Moyen J.L., Benet J.J., Garin-Bastuji B., Gares H.; Study of the specificity and the sensitivity of the dosage of the interferon gamma technique to the cattle for the diagnosis of bovine tuberculosis; *Rencontres Recherches Ruminants*, 15 (2008), pp. 81–84.
- Gardner I.A., Stryhn H., Lind P., Collins M.T., 2000. Conditional dependence between tests affects the diagnosis and surveillance of animal disease. *Preventive Veterinary Medicine*, 45: 107-122.
- Georgiadis M.P., Johnson W.O., Singh R., Gardner I.A., 2003. Correlation-adjusted estimation of sensitivity and specificity of two diagnostic tests. *Applied Statistics*, 52: 63-78.
- Lunn D.J., Thomas A., Best N., Spiegelhalter D. , 2000. WinBUGS - A Bayesian modelling framework: concepts, structure, and extensibility. *Statistics and Computing*, 10(4): 325-337.
- Taconnet A. 2009.- Bilan de l'utilisation du test de dosage de l'interféron gamma dans la lutte contre la tuberculose bovine en Camargue. *Rapport de stage IESPV 1^o année*, 64 p.

**ANNEXE G : OBJECTIVATION DU RISQUE DE REACTIONS NON SPECIFIQUES A LA TUBERCULINE BOVINE
[EPIMAI UPEC-ENVA USC ANSES]**

CONTEXTE

La Côte-d'Or est connue de très longue date pour la fréquence élevée de réactions non spécifiques à la tuberculine bovine. C'est pourquoi ce département a fait le choix d'utiliser systématiquement l'IDC pour le contrôle des élevages indemnes de tuberculose.

Cette technique utilisant simultanément les tuberculines bovine et aviaire, on dispose de l'information objective des nombres d'élevages et d'animaux dans ces élevages réagissant à la tuberculine bovine.

Le but de cette note est d'objectiver la fréquence élevée de réactions non spécifiques et d'en caractériser les manifestations principales.

MÉTHODE

Source :

Base (Access) fourni par la DDPP21 (mise à jour au 23/01/2012). Utilisation de la table « Interventions » de cette base, comportant pour chaque élevage la liste de toutes les interventions (prophylaxie, police sanitaire, ventes) enregistrées depuis le 5/01/2009, exporté sous XL.

Les données relatives à la police sanitaire et aux ventes ont été retirées, pour ne garder que les résultats concernant des élevages indemnes soumis à tuberculination. Le fichier « Prophylaxie » comportait 5741 enregistrements : pour certains élevages, le vétérinaire étant intervenu plusieurs fois pour une même opération de contrôle (l'IDC étant une opération lourde qui ne peut être réalisée en une seule fois pour les gros élevages, tout en permettant de concilier les autres activités du vétérinaire praticien), il a fallu compiler les données de ces différentes interventions sur une seule ligne.

Les données ont été organisées par campagne du 1/10 d'une année au 30/09 de l'année suivante, soit deux campagnes complètes, les données de 2011-2012 incomplètes n'ont pas été exploitées.

Après ce traitement, le fichier final comportait 3740 lignes, dont 1623 pour la campagne 2009-2010 et 1570 pour la campagne 2010-2011. Les données pour la campagne 2011-2012 (547) n'ont pas été exploitées, car visiblement non représentatives, les vétérinaires n'intervenant pas dans les élevages de façon aléatoire, mais en commençant par des élevages les plus susceptibles de nécessiter toute leur attention.

Traitements

Pour chaque élevage, on disposait du nombre d'animaux soumis au contrôle et les résultats correspondants : IDC (positif, négatif, « petits douteux » : résultat IDC douteux, mais DB inférieur à 4 mm ; « grands douteux » : résultat IDC douteux, mais DB supérieur à 4 mm) ; tuberculine bovine (positif, douteux, négatif) ; tuberculine aviaire (négatif, positif).

Les dénombrements ont été effectué à l'aide d'un tableau croisé dynamique : élevages et animaux correspondant aux résultats les plus utiles pour cette évaluation.

RÉSULTATS

Pour la campagne 2009-2010, 1 623 élevages indemnes regroupant 149 505 bovins ont été contrôlés par tuberculination (moyenne 92 bovins par élevage), et pour la campagne 2010-2011, 1 570 élevages (144 930 bovins, moyenne 92 bovins).

Plus d'un élevage sur deux (respectivement 58 et 53% des élevages indemnes tuberculins) ont présenté au moins un bovin ayant réagi non négativement à la tuberculine bovine (tableaux 1 et 2). Au total, pour 2009-2010, 5 916 bovins ont réagi à la tuberculine bovine dans 938 élevages regroupant 104 240 bovins, soit 5,7% des bovins, ou 6,3 bovins par élevage, et pour 2010-2011, 7 739 bovins dans 830 élevages comportant 95 742 bovins, soit 8,1% des bovins, ou 9,3 bovins par élevage.

Parmi les élevages comportant des bovins réagissants, un peu plus de la moitié d'entre eux avaient au moins un bovin à résultat positif (respectivement 57 et 61 %).

Tableaux 1 et 2 : dénombrement des élevages selon la réaction à la tuberculine bovine

Tableau 1 = Campagne 2009-2010 (1 623 élevages)

	Cheptels comportant au moins un bovin ayant donné un résultat positif (>4mm) à la tuberculine bovine	Cheptels ne comportant pas de bovin à résultat positif mais au moins un bovin à résultat douteux : [2-4 mm] à la tuberculine bovine	total	%
Nombre de cheptels comportant au moins un bovin à un résultat non négatif	536	402	938	58%
Proportion de cheptels comportant au moins un bovin à un résultat non négatif	57%	43%		
Nombre de cheptels ne comportant que des bovins à résultat négatif			685	42%

Tableau 2 = Campagne 2010-2011 (1 570 élevages)

	Cheptels comportant au moins un bovin ayant donné un résultat positif (>4mm) à la tuberculine bovine	Cheptels ne comportant pas de bovin à résultat positif mais au moins un bovin à résultat douteux : [2-4 mm] à la tuberculine bovine	total	%
Nombre de cheptels comportant au moins un bovin à un résultat non négatif à la tuberculine bovine	505	325	830	53%
Proportion de cheptels comportant au moins un bovin à un résultat non négatif	61%	39,2%		
Nombre de cheptels ne comportant que des bovins à résultat négatif à la tuberculine bovine			740	47%

La proportion d'élevages dans lesquels au moins un bovin a réagi positivement à la tuberculine aviaire est du même ordre de grandeur : respectivement 56 et 52%.

CONCLUSION

Au total, une très forte proportion d'élevages de Côte-d'Or (près de 6 élevages sur 10) présente des animaux réagissant à la tuberculine bovine, ce qui a justifié le choix du recours systématique à l'IDC dans ce département. A titre de comparaison, en Dordogne où l'IDS a été utilisée de façon systématique pour les mêmes périodes, le nombre d'élevages à réaction non négative a été de 121 sur 2 371 (5%) en 2009-2010 et de 177 sur 2092 (8%) en 2010-2011.